

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB –BLIDA-

FACULTE DES SCIENCES AGRO-VETERINNAIRES

DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES

Etude phytochimique et biologique de l'espèce « *Ruta montana* L. » des deux régions (Blida et Batna). L'effet des tensioactifs anionique et non ioniques sur l'extraction des huiles essentielles

Mémoire de Master 2

Option : sciences alimentaires

BENSAADA Hanane

Devant le jury composé de :

M <sup>r</sup> RAMDAN.S.	Maitre assistant A	USDB	Président de jury.
M <sup>r</sup> KADRI.B.	Maitre de conférences B	USDB	promoteur.
M <sup>r</sup> AIT YAHYA.A.A	Maitre assistant A	USDB	Co-promoteur.
M <sup>r</sup> BOUSSA.A.L	Maitre de conférences B	USDB	examineur.
M <sup>r</sup> HADJ SADOUK. A.	Maitre de conférences A	USDB	examineur.

ANNEE UNIVERSITAIRE 2012/2013

## *Remerciements*

*Avant toutes choses, on tient à remercier « ربي عز وجل » d'être notre dieu tout d'abord, et pour nous avoir donné la force et surtout la patience afin de pouvoir réaliser ce mémoire.*

*Ce travail a été réalisé principalement au sein de l'laboratoire de recherche à l'école nationale supérieure d'ELKOUBA(ENS).*

*Nos remerciement vont en particulier à :*

*Mr KADRI I, maître de conférences à l'université de Tifla, pour avoir accepté à nous encadrer pour la deuxième fois, et surtout de nous avoir aidés d'intégrer au master 2.*

*On ne remerciera jamais assez Mr AIT YAHYA, et Mme AIT YAHYA, maîtres assistants au niveau de département de chimie (Université de Blida) pour la grande aide, leur générosité et leur gentillesse.*

*Nos vifs remerciements à Mr RAMDANE, chargé de cours à l'université de Blida pour nous avoir fait l'honneur de présider ce jury.*

*On tient à remercier Mr ZOUSBIA, maître de conférences .B et Mr HADJ SADOUK, maître de conférences A à l'université de Blida pour l'honneur qu'ils nous font de juger ce travail.*

*Nos sincères remerciements aux personnes de parc national de Belezma : Mr Tensasi mohammed, Mr Yacine, Dr Hamchi, et tous qui nous ont aidés à l'aboutissement de ce mémoire.*

*A Abdelkarim, cadre au niveau de parc nationale de Chréa (secteur Hammam Melouane).*

*A Mr Tarek, pour son aide et ses précieux conseils.*

*On tient à exprimer notre profonde gratitude à nos parents, et sœurs pour nous avoir encouragés et d'être toujours avec nous.*

*A nos très chers amis et à toute personne qui a participé de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.*

## *Dédicace*

*Je dédie ce mémoire à :*

*Aux personnes les plus chères au monde : mes chères parents qui m'ont permis de continuer mes études dans les meilleures conditions et qui m'ont appris à ne jamais baisser les bras ;*

*A mes très chères sœurs : Souad, Souhila, Khalida et surtout Chahrazed qui à toujours cru en moi ;*

*A mes nièces et mes neveux surtout khouloud et Riyad,*

*A mes très chères amis : Amina, Fatima, Djamila, ImenB et ImenM, Fella, Atika, AminaA, Ibtissam, Nessim, Hadjer, Messouda, Rfika, Nadia, Nassima, Sarha, et les filles de la laboratoire, Mouhamed, Mustafa, Ahmed, Ferhat, Ahmed I, avec toute mon affection et ma reconnaissance.*

**Hanane**

PDF Create! 4 Trial  
www.nuance.com

## Résumé

Ce travail a porté sur l'extraction des huiles essentielles de « *Ruta montana L.* » récoltée de deux régions différentes (Blida et Batna) par hydrodistillation (type clevenger). On nous compare entre les rendements, compositions chimiques, ainsi que leur activités radicalaires.

D'autre part, une autre série d'hydrodistillation (type clevenger) de la même espèce provenant de la région de Batna en présence des tensioactifs cationiques et non anioniques. Nous a permis d'identifier l'influence de ces agents surfactants selon leurs nature ioniques sur les rendements, compositions chimiques, et même leur pouvoirs antioxydants.

**Mots clés :** « *Ruta montana L.* », Huile essentielle, Tensioactifs, hydrodistillation (type clevenger).

**المخلص:** يتضمن هذا العمل استخراج الزيوت الأساسية من نبتة فيجلة الجبل المقطفة من منطقتي بلدية و باتنة بطريقة التقطير المائي (نوع clevenger) وذلك بهدف مقارنة الإنتاجية، التركيب الكيميائي و دراسة النشاط ضد التأكسد. من جهة أخرى سلسلة من عملية التقطير المائي (نوع clevenger) من نفس النبتة الصادرة من منطقة باتنة باستعمال المادة الفعالة مع نبيان تأثير هذه المادة على الإنتاجية، التركيب الكيميائي و النشاط ضد التأكسد.

**المصطلحات:** نبتة فيجلة الجبل، الزيوت الأساسية، المادة فعالة، التقطير المائي (نوع clevenger).

## Abstract

This work focuses on the extraction (type clevenger) of « *Ruta montana L.* » coming from the two regions (Blida et Batna). To do the comparison between the output, the chemical composition, and the antioxidants capacity.

For the second part, the series of distillation (type clevenger) to the same spice coming from Batna in the presence of surfactants agents identified the output, chemical composition, and antioxidants capacity.

**Keywords :** « *Ruta montana L.* », essential oil, surfactants agents, distillation (type clevenger)

## Liste des abréviations

- **AFNOR** : Association Française de Normalisation
- **ATCC** : American Type Culture Collection
- **CG/MS** : Chromatographie en phase Gazeuse couplée à la spectrométrie de Masse
- **CPG** : Chromatographie en phase Gazeuse
- **d** : Densité
- **HE** : Huile essentielle
- **Kg** : Kilogramme
- **MHE** : Masse de l'huile essentielle
- **mn** : Minute
- **pH** : potentiel d'hydrogène
- **Rd THE** : Rendement cumulé en huile essentielle
- **SM** : spectrométrie de masse
- **MH** : Muench Hinton
- **Sab** : Mireille Sabouraux

## Liste des tableaux

<b>Tableau n°1</b> : des exemples de dénomination du genre « <i>Ruta</i> ».....	4
<b>Tableau n°2</b> : Quelques usages traditionnels du « <i>Ruta</i> »	
<b>Tableau n°3</b> : Exemples des travaux antérieurs sur l'extraction et caractérisation de l'huile essentielles « <i>Ruta montana</i> ».....	6
<b>Tableau n°4</b> : Application des tensioactifs selon les HLB.....	29
<b>Tableau n°5</b> : Travaux antérieurs sur l'extraction des huiles essentielles en utilisant des tensioactifs .....	35
<b>Tableau n°6</b> : Les produits chimiques et verrerie utilisés pour la réalisation de travail.....	37
<b>Tableau n°7</b> : Classification de la plante étudiée.....	38
<b>Tableau n°8</b> : Statut de la flore du parc national de Belzema.....	39
<b>Tableau n°9</b> : Les caractéristiques chimiques de tensioactifs utilisés.....	43
<b>Tableau n°10</b> : Rendements en huile essentielle en pourcentage (%) obtenus à partir de « <i>Ruta montana</i> » extraite par hydrodistillation (type clevenger) en absence des tensioactifs.....	52
<b>Tableau n°11</b> : Comparaison des différents rendements en huile essentielle de l'espèce étudiée des régions différentes.....	53
<b>Tableau n°12</b> : Caractéristiques physiques et organoleptiques des huiles essentielles de « <i>Ruta montana</i> » des deux régions étudiées.....	54
<b>Tableau n°13</b> : Composition chimique de l'huile essentielle de « <i>Ruta montana</i> » provenant de la région de Blida.....	55
<b>Tableau n°14</b> : Composition chimique de l'huile essentielle de « <i>Ruta montana</i> » provenant de la région de Batna.....	57
<b>Tableau n°15</b> : Comparaison des teneurs relatives en pourcentage des composés majoritaires des huiles essentielles de « <i>Ruta montana</i> » des deux régions étudiées.....	57
<b>Tableau n°16</b> : Comparaison des teneurs relatives en (%) de composé majoritaire de l'huile essentielle de l'espèce étudiée provenant des régions différentes.....	58
<b>Tableau n°17</b> : Différentes classes chimiques présentes dans l'huile essentielle de « <i>Ruta montana</i> » provenant des deux régions différentes .....	59
<b>Tableau n°18</b> : Comparaison de classes chimiques présentes dans l'huile essentielle de l'espèce étudiée provenant des régions différentes.....	61
<b>Tableau n°19</b> : Les teneurs en phénols totaux de l'extrait de « <i>Ruta montana</i> » provenant des deux régions étudiées.....	62
<b>Tableau n°20</b> : Les teneurs en tanins de l'extrait de « <i>Ruta montana</i> » des deux régions étudiées (Blida et Batna).....	64
<b>Tableau n°21</b> : Pouvoir antioxydant des deux antioxydants standards utilisés (BHT, VitC).....	66
<b>Tableau n°22</b> : Le pouvoir de piégeage du radical DPPH de l'huile essentielle de « <i>Ruta montana</i> » provenant des deux régions étudiées.....	67

<b>Tableau n°23</b> : Le pouvoir de piégeage du radical DPPH de l'extrait de « <i>Ruta montana</i> » des deux régions étudiées.....	68
<b>Tableau n°24</b> : Les des différents antioxydants étudiés.....	70
<b>Tableau n°25</b> : Rendement en huile essentielle de « <i>Ruta montana</i> » en (%) provenant de la région de Batna en présence et en absence des tensioactifs.....	71
<b>Tableau n°26</b> : Composition chimique de l'huile essentielle de l'espèce étudiée en présence de SDS.....	74
<b>Tableau n°27</b> : Composition chimique de l'huile essentielle de l'espèce étudiée en présence de CTAB.....	75
<b>Tableau n°28</b> : Différentes classes chimiques présentes dans l'huile essentielle de « <i>Ruta montana</i> » de la région de Batna en présence et en absence des tensioactifs.....	76
<b>Tableau n°29</b> : Comparaison des différentes classes chimiques présentes dans l'huile essentielle de « <i>Ruta montana</i> » de la région de Batna en présence et en absence des tensioactifs.....	77
<b>Tableau n°30</b> : Des teneurs relatives des composés majoritaires en (%) de l'huile essentielle de « <i>Ruta montana</i> » en présence et en absence des tensioactifs.....	79
<b>Tableau n°31</b> : Le pouvoir de piégeage du radical DPPH de l'huile essentielle de « <i>Ruta montana</i> » en présence et en absence des tensioactifs.....	80

## Liste des figures

<b>Figure n°1</b> : La fleur de « <i>Ruta montana</i> L. » .....	5
<b>Figure n°2</b> : La plante « <i>Ruta montana</i> ».....	5
<b>Figure n°3</b> : Phototoxicité par « <i>Ruta montana</i> ».....	9
<b>Figure n°4</b> : Exemple de la structure chimique des alcaloïdes.....	12
<b>Figure n°5</b> : Structure chimique des composés phénoliques.....	12
<b>Figure n°6</b> : Structure de base d'une coumarine.....	13
<b>Figure n°7</b> : Structure chimique de bergaptène.....	14
<b>Figure n°8</b> : Structure chimique d'ombélliférone.....	14
<b>Figure n°9</b> : Structure chimique de xanthyletine.....	14
<b>Figure n°10</b> : Structure de base des flavonoides.....	15
<b>Figure n°11</b> : Structure de base des flavones.....	15
<b>Figure n°12</b> : Isoprène .....	17
<b>Figure n°13</b> : Exemple des composants monoterpéniques.....	17
<b>Figure n°14</b> : Exemple des composants sesquiterpéniques.....	18
<b>Figure n°15</b> : La vanilline.....	18
<b>Figure n°16</b> : Montage d'hydrodistillation.....	20
<b>Figure n°17</b> : Coupe schématique d'un montage de l'entraînement à la vapeur d'eau.....	20
<b>Figure n°18</b> : Schéma du procédé de récupération de l'huile essentielle de citron et autres agrumes.....	21
<b>Figure n°19</b> : Principe schématisé de l'appareillage de système de l'hydrodistillations sous micro-ondes .....	22
<b>Figure n°20</b> : Représentation schématique d'une molécule de tensioactifs.....	24
<b>Figure n°21</b> : Bromure d'exadécyl triméthylammonium ou CTAB.....	25
<b>Figure n°22</b> : Le sulfate de dodécyle et de sodium ou SDS.....	25
<b>Figure n°23</b> : Structure de base des tensioactifs non ioniques.....	26
<b>Figure n°24</b> : Structure chimique de Tween 80.....	26
<b>Figure n°25</b> : Evolutions de différentes propriétés physico-chimiques d'une solution en fonction de la concentration en tensioactifs.....	28
<b>Figure n°26</b> : Structure de la cuticule foliaire.....	31
<b>Figure n°27</b> : Structure de la membrane cellulaire.....	32
<b>Figure n°28</b> : Schéma d'une aquaporine.....	32
<b>Figure n°29</b> : Chemins préférentiels de diffusion de l'eau par voie polaire dans les cuticules végétales.....	33
<b>Figure n°30</b> : Interactions tensioactif-bicouche lipidique et formation des micelles.....	34
<b>Figure n°31</b> : « <i>Ruta montana</i> » de la région de Batna.....	39
<b>Figure n°32</b> : Carte géographique de parc national de Belezma.....	40
<b>Figure n°33</b> : « <i>Ruta montana</i> » de Hammame Melouane Blida.....	40
<b>Figure n°34</b> : Carte géographique de la région de Hammame Melouane.....	41
<b>Figure n°35</b> : Montage d'hydrodistillation (type clevenger).....	42
<b>Figure n°36</b> : Montage de soxhlet.....	45
<b>Figure n°37</b> : Solution méthalonique d'extrait végétale de « <i>Ruta montana</i> ».....	46
<b>Figure n°38</b> : Protocole de mise en œuvre du test de dosage des phénols totaux.....	48
<b>Figure n°39</b> : Forme libre et réduit du radical DPPH.....	50
<b>Figure n°40</b> : Chromatogramme de l'huile essentielle extraite à partir de la partie aérienne de « <i>Ruta montana</i> » de la région de Blida.....	55

<b>Figure n°41</b> : Chromatogramme de l'huile essentielle extraite à partir de la partie aérienne de « <i>Ruta montana</i> » de la région de Batna.....	56
<b>Figure n°42</b> : Histogramme comparatif des composés majoritaires de l'huile essentielle de « <i>Ruta montana</i> » des deux régions étudiées.....	58
<b>Figure n°43</b> : Histogramme comparatif des teneurs relatives en (%) de composé majoritaire de l'huile essentielle de l'espèce étudiée provenant des régions différentes.....	59
<b>Figure n°44</b> : Histogramme comparatifs des différentes classes chimiques des deux huiles essentielles étudiées.....	60
<b>Figure n°45</b> : Histogramme comparatif des différentes classes chimiques des huiles essentielles de la « Rue » des deux régions étudiées.....	60
<b>Figure n°46</b> : Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.....	62
<b>Figure n°47</b> : Histogramme comparatif des teneurs en phénols totaux des extraits de « <i>Ruta montana</i> » des deux régions étudiés.....	63
<b>Figure n°48</b> : Courbe d'étalonnage d'acide tannique pour le dosage des tanins.....	64
<b>Figure n°49</b> : Histogramme des teneurs en tanins de l'extrait de « <i>Ruta montana</i> » des deux régions.....	64
<b>Figure n°50</b> : Histogramme comparatif entre les phénols totaux et tanins.....	65
<b>Figure n°51</b> : Activité de piégeage du radical DPPH des antioxydants des synthèses (BHT, VitC) en fonction des concentrations.....	67
<b>Figure n°52</b> : La capacité radicalaire de l'huile essentielle de « <i>Ruta montana</i> » des deux régions étudiées.....	67
<b>Figure n°53</b> : La capacité radicalaire de l'extrait de « <i>Ruta montana</i> » des deux régions étudiées.....	69
<b>Figure n°54</b> : Histogramme comparatif des capacités radicalaires des antioxydants de synthèses et les extraits de différentes régions étudiées.....	69
<b>Figure n°55</b> : Histogramme des.....	71
<b>Figure n°56</b> : Histogramme des différents rendements en huile essentielle de « <i>Ruta montana</i> » en présence et en absence des tensioactifs.....	72
<b>Figure n°57</b> : Schéma de mécanisme d'intervention des tensioactifs dans l'extraction des huiles essentielles.....	72
<b>Figure n°58</b> : Chromatogramme de l'huile essentielle extraite à partir de la partie aérienne de « <i>Ruta montana</i> » de la région de Batna en présence de tensioactifs anionique (SDS).....	74
<b>Figure n°59</b> : Chromatogramme de l'huile essentielle extraite à partir de la partie aérienne de « <i>Ruta montana</i> » de la région de Batna en présence de tensioactif cationique (CTAB).....	75
<b>Figure n°60</b> : Histogramme des différentes classes chimiques de l'huile essentielle étudié en présence des tensioactifs.....	76
<b>Figure n°61</b> : Histogramme comparatifs des classes chimiques présentées dans les huiles essentielles en présence et en absence des tensioactifs.....	77
<b>Figure n°62</b> : Histogramme comparatif des composés majoritaires de l'HE de l'espèce étudiée de la région de Batna en présence et en absence des TA.....	79
<b>Figure n°63</b> : Histogramme du pouvoir antioxydant de l'huile essentielle de « <i>Ruta montana</i> » de Batna en absence et en présence des tensioactifs.....	80

---

# Table des matières

Introduction.....1

## Bilan bibliographique

### Chapitre I : Aperçus bibliographique de genre « Ruta »

I.1.Introduction.....3

I.2.Le genre « Ruta ».....3

    I.2.1.Introduction.....3

    I.2.2.Appellation.....4

    I.2.3.Distribution et habitat.....4

    I.2.4.Description botanique.....4

    I.2.5.Utilisations principales.....6

        I.2.5.1.En médecine traditionnelle.....6

        I.2.5.2.En agroalimentaire.....8

        I.2.5.3.Autres emplois.....8

    I.2.6.Données toxicologiques de genre « Ruta ».....8

    I.2.7.Des travaux antérieurs sur le genre « Ruta ».....9

### Chapitre II : Les métabolites secondaires de genre « Ruta »

II.1.Introduction.....11

II.2.Les alcaloïdes.....11

    II.2.1.Introduction.....11

    II.2.2.Les alcaloïdes de « Ruta ».....12

II.3.Les composés phénoliques.....12

    II.3.1.Introduction.....12

    II.3.2.Les tanins.....12

    II.3.3.Les coumarines.....13

II.3.4.Les flavonoïdes.....	15
II.4.Les huiles essentielles.....	16
II.4.1.Composition chimique de l'huile essentielle.....	16
II.4.1.1.Terpénoïdes.....	16
II.4.1.2.Composés aromatiques.....	18
II.4.1.3.Composés d'origine diverses.....	18
II.4.2.La composition chimique de l'huile essentielle de « Ruta ».....	18
II.4.3.Méthodes d'extractions de l'huile essentielle.....	19
II.4.3.1.L'hydrodistillation.....	19
II.4.3.2.L'entraînement à la vapeur d'eau.....	20
II.4.3.3.L'hydrodiffusion.....	21
II.4.3.4.L'expression à froid.....	21
II.4.3.5.L'hydrodistillation assistée par micro-ondes.....	22
II.4.3.6.Extraction par microémulsion.....	23
<b>Chapitre III : Les tensioactifs</b>	
III.1.Introduction.....	24
III.2.Aperçus général.....	24
III.3.Définition.....	24
III.4.Classification.....	25
III.4.1.Tensioactifs cationiques.....	25
III.4.2.Tensioactifs anioniques.....	25
III.4.3.Tensioactifs amphotères.....	25
III.4.4.Tensioactifs non ioniques.....	26
III.5.Propriétés.....	26
III.5.1.La tension superficielle.....	26
III.5.2.Adsorption aux interfaces.....	27

III.5.3. Concentration micellaire critique (CMC).....	27
III.5.4. Balance lipophile-hydrophile (HLB).....	28
III.6. Solubilité.....	29
III.6.1. Point de kraft.....	29
III.6.2. Point de trouble.....	29
III.7. Solubilisation.....	30
III.8. Les tensioactifs et les membranes végétales.....	30
III.8.1. Structure et constitution de la cuticule végétale.....	30
III.8.2. Les principaux constituants de la cuticule et la membrane végétale.....	31
III.8.3. Action des tensioactifs sur la cuticule.....	33
III.9. Travaux antérieurs sur l'extraction des huiles essentielles en utilisant des agents tensioactifs.....	35

## **Partie expérimentale**

### **Chapitre I : Matériels et méthodes**

I. Objectif de travail.....	37
II. Matériels chimiques et verrerie.....	37
III. Matériel végétal.....	37
III.1. Description de la plante utilisée pour l'extraction des huiles essentielles.....	37
III.2. Récolte et identification de la plante.....	38
III.3. Présentation des deux zones d'études.....	38
IV. Extraction des huiles essentielles de « <i>Ruta montana</i> » récoltée des deux régions étudiées.....	41
IV.1. Protocole expérimental d'extraction.....	41
IV.2. Rendement de l'extraction.....	43
V. Extraction des composés phénoliques.....	44
V.1. Extraction par solvant volatils (extraction par soxhlet).....	44
V.2. Mode opératoire.....	45

VI. Caractérisations de l'huile essentielle.....	46
VI.1.Caractéristiques organoleptiques.....	46
VI.2.Analyses chromatographiques.....	46
VI.2.1.Analyses semi qualitatives et semi quantitatives des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.....	46
VII. Dosage des composés phénoliques.....	47
VII.1.Dosage des phénols totaux.....	47
VII.1.1.Principe.....	47
VII.1.2.Mode opératoire.....	47
VII.1.2.1.Courbe d'étalonnage.....	47
VII.1.2.2.Dosage des phénols totaux des deux extraits étudiés.....	48
VII.2.Dosage des tanins.....	49
VII.2.1.Dosage des tanins des deux extraits étudiés.....	49
VII.2.1.1.Mode opératoire.....	49
VIII. Etude du pouvoir antioxydant des huiles essentielles en présence et en absence des tensioactifs ainsi que les extraits bruts.....	49
VIII.1.Activité de piégeage du radical DPPH.....	49
VIII.1.1.Principe.....	49
VIII.1.2.Préparation de la solution de DPPH.....	50
VIII.1.3.Préparation de la solution mère et dilutions des huiles essentielles et des extraits.....	50
VIII.1.4.Calcul.....	51

## Chapitre II : Résultats et discussion

I. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation (type cleverger) de « <i>Ruta montana</i> » :(en présence et en absence des tensioactifs).....	52
I.1.Rendement en huile essentielle de « <i>Ruta montana</i> » par hydrodistillation (type cleverger) en absence des tensioactifs.....	52
I.2.Caractéristiques physiques et organoleptiques des huiles essentielles de « <i>Ruta montana</i> » des deux régions étudiées.....	54

I.3.Analyses chromatographiques.....	54
I.3.1.Analyses semi qualitatives et semi quantitatives de l'huile essentielle de la « Rue ».....	54
I.4.Dosage des polyphénols.....	62
I.4.1.Dosage des phénols totaux.....	62
I.4.2.Dosage des tanins.....	63
I.5.Evaluation du pouvoir antioxydant par piégeage du radical libre de DPPH.....	65
I.5.1.Pouvoir antioxydant des trois antioxydants standards utilisés (BHT, vitC).....	66
I.5.2.Activité de piégeage du radical DPPH des huiles essentielles en absence des tensioactifs.....	67
I.5.3.Pouvoir de piégeage du radical de DPPH par l'extraire de « <i>Ruta montana</i> » des deux régions étudiées.....	68
I.5.4.Estimation de .....	70
II. Extraction des huiles essentielles de « <i>Ruta montana</i> » récoltée de la région de Batna en présence de tensioactifs.....	71
II.1.Rendement en huile essentielle de « <i>Ruta montana</i> » de la région de Batna par hydrodistillation (type clevenger) en présence des tensioactifs.....	71
II.2.Analyses Chromatographiques.....	73
II.2.1.Analyses semi qualitatives et semi quantitatives de l'huile essentielle de la « Rue » de la région de Batna en présence des tensioactifs.....	73
II.3.Activité de piégeage du radical DPPH de l'huile essentielle en présence des tensioactifs (SLS et Tween).....	80
<b>Conclusion.....</b>	<b>82</b>

PDF Create! 4 Trial  
www.nuance.com

# INTRODUCTION

PDF Creator! 4 Trial  
www.nuance.com

---

## INTRODUCTION

Au travers des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base : Nourriture, abris et également pour ces besoins médicaux. L'utilisation thérapeutique des extraordinaires vertus des plantes pour le traitement de toutes des maladies de l'homme est très ancienne et évaluée avec l'histoire de l'humanité. Bien qu'une grande partie du XXIème siècle ait été consacrée à la mise au point de molécule de synthèse.

Les extraits bruts des plantes commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Elles sont essentiellement utilisées sous deux formes :

- Comme un mélange complexe contenant un large spectre de constituant (infusion, des huiles essentielles et des extraits des teintures)
- Pure, chimiquement définie comme le principe actif qui utilise comme alternative pour le traitement des maladies infectieuses et pour la protection des aliments contre l'oxydation

Notre travail s'intéresse dans un premier temps à faire une étude comparative chimiquement et biologiquement les huiles essentielles de « *Ruta montana L.* » provenant des deux régions différentes (Blida et Batna), en basant sur leurs rendements, composition chimique, et activité antioxydante.

Dans un deuxième point, notre étude consiste à extraire en présence des tensioactifs anionique et non ionique les huiles essentielles de la même espèce récoltée de la région de Batna afin d'évaluer leur influence non seulement sur le rendement mais aussi sur l'activité antioxydante.

Dans la première partie de ce mémoire, nous rapporterons une étude bibliographique, consacrée à :

- une étude botanique sur le genre « *Ruta* », l'objet de cette étude
- Présentation quelques métabolites secondaires de la plante étudiée
- Pour le troisième chapitre traite l'utilisation des tensioactifs, lors de l'extraction des huiles essentielles. On présente une définition, classification, propriétés...etc.

Dans la deuxième partie, abordera un chapitre présente le matériel et les méthodes utilisés lors de la réalisation de ce travail.

Le dernier chapitre résume les résultats ainsi que leurs discussions :

-Extraction des huiles essentielles de « *Ruta montana L.* » récoltée de deux régions différentes (Blida et Batna)

- Quantifier et comparer les rendements.
- Composition chimique des huiles essentielles

- 
- Evaluer et comparer les pouvoirs antioxydants des huiles essentielles et l'extraits.
  - Quantifier et comparer les phénols totaux et tanins.
  - Extraction des huiles essentielles de « *Ruta montana L.* » de la région de Batna en présence des tensioactifs (SDS, Tween).
  - Quantifier et comparer les rendements obtenus.
  - Composition chimique des huiles essentielles.
  - Evaluer leur pouvoir antioxydants.

Enfin, une conclusion générale résume l'essentielle des résultats obtenus.

---

PDF Create! 4 Trial  
www.nuance.com

**PARTIE I :**  
**PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

**CHAPITRE 1 :**  
**Aperçus botaniques sur le genre**  
**« Ruta »**

## I.1.Introduction

La famille des Rutacées a été décrite initialement en 1782 par Durande, certains auteurs tels que, Guignard (2001), place les Rutacées dans la classe des Dicotyledones, à la sous classe des Dialypétales, la série des disciflores, ordre des Spindales (Rutales).

Les représentants de cette famille répartis en 150 genres (Bruneton, 1999). Comprenant peut être 1500 espèces de répartition cosmopolite (Botineau, 2010). Qui sont principalement rencontrées dans les régions tropicales et tempérées chaude du globe.

Les Rutacées sont majoritairement arborescents, ils sont caractérisés par des poches sécrétrices d'un type qui n'est rencontré dans aucune autre famille : dite Schizolysigènes ces poches sont d'origine épidermique, sont toujours superficielles et libèrent leur contenu : une huile essentielle à la moindre pression.

Beaucoup espèces des Rutacées sont utilisées dans différents domaines : en pharmacie, dans les industries agro-alimentaires telles que diverses espèces du genre « citrus ».

Leurs flavonoides sont principalement utilisés pour améliorer l'insuffisance veino-lymphatique, leurs huiles essentielles sont utilisées surtout en parfumerie.

## I.2. Le genre « Ruta »

### I.2.1.Introduction

Le genre Ruta appartient à la famille des Rutacées (Guignard, 2010). Ce genre a été découvert par C.Vonlinné. Le Ruta est aussi connu par son nom grec « Ρύτση », qui fait allusion à ses vertus emménagogues (François, 2000). Les synonymes recensés sont : Rue fétide, Rue puante, piganion, herbe du grâce (Clevely et al, 1997).

L'intérêt suscité de l'étude phytochimique du genre « Ruta » revêt plusieurs aspects :

- Un aspect pharmacologique : à cause de la présence d'une substance « rutine » : rutoside ou quercétine 3-rhamnoglucoside. Selon Weiss, ce principe (1%) peut être utilisé en même titre que le marron d'Inde dans l'insuffisance veineuse (Guy, 1967).
- Un aspect thérapeutique : en raison de l'utilisation de différentes espèces en médecine traditionnelle.
- Un aspect chimique : en raison de la présence de nombreux alcaloïdes, flavonoides, les coumarines, les saponines, les lignines et les tritèrènes Belkacem et al. (2011)
- Aspect aromatisant : en raison de la présence d'une huile essentielle.

**I.2.2. Appellations :** La « Rue » revêtu plusieurs appellations depuis qu'elle est connue.

**Tableau n° 1 :** Des exemples de dénomination du genre « Ruta » (Quezel et Santa, 1963, Ait Youssef, 2006).

Espèce	Appellations
<i>Ruta graveolens</i>	Rue fétide, Rue des jardins, Rue officinale, marijjô
<i>Ruta montana</i> L.	Rue des montagnes, Rue sauvage, fidjlete el jbel, aourmi, sa'lab
<i>Ruta chalepensis</i>	Rue d'Alep, Awermi

### I.2.3. Distribution et habitat :

Deux espèces du genre « Ruta » sont représentées en Algérie et peuvent se trouver en Kabylie « : *Ruta chalepensis* » et « *Ruta montana* L. ».

- ***Ruta montana*** : espèce présente du Maghreb. En Algérie elle est souvent dénommée Aourmi ou fidjela el jbel, elle est connue dans les montagnes de l'intérieur du pays jusqu'à l'Atlas saharien (Ait Youssef, 2006). Elle s'est rencontrée dans le Sud d'Europe (Teusher et al, 2005), Ouest de l'Asie et l'Afrique du Nord ainsi que le Nord d'Algérie (Quezel et Santa, 1963.).
- ***Ruta graveolens*** : espèce présente à l'état spontanée ou subspontanée ou aussi cultivée. Dans certains pays d'Afrique du Nord (Maroc), le Sud d'Europe et dans certains pays d'Asie. Elle y pousse dans les lieux secs et rocailleux, bordures des chemins et des rochers (Ait Youssef, 2006, Quezel et Santa, 1963).
- ***Ruta chalepensis*** : avec ses deux sous espèces :
  - *Ruta chalepensis* ssp : *angustifolia*
  - *Ruta chalepensis* ssp : *latifolia*
 C'est une espèce qui se trouve dans la région méditerranéenne (Bartels, 1990). Elle pousse sur les murs, les roches et les prairies sèches. (Ait Youssef, 2006. Quezel et Santa, 1963).

### I.2.4. Description botanique :

La « Rue » est une plante vivace de forme presque arbustive, sa tige est ligneuse au bas de haut, ses feuilles bleu-vert sont alternes et profondément subdivisées en trois segments spatulés ou oblonges de 15 mm de longueur ses fleurs vertes jaunes sont disposées en panicules ou corymbes terminale, les feuilles et les fleurs sont très plates (possédant un disque nectarifère) intra staminal.

En Europe, la floraison à lieu en Mai-Juin et la fructification en fin d'été, on distingue deux variétés cultivées, soit la variété : « *divaricata* » qui possède les feuilles brillantes de couleur jaune vert et la variété « *variegata* » dont les feuilles sont panachées (Guignard, 2001).



Figure n°01 : La fleur de « *Ruta montana* L. » (Original).

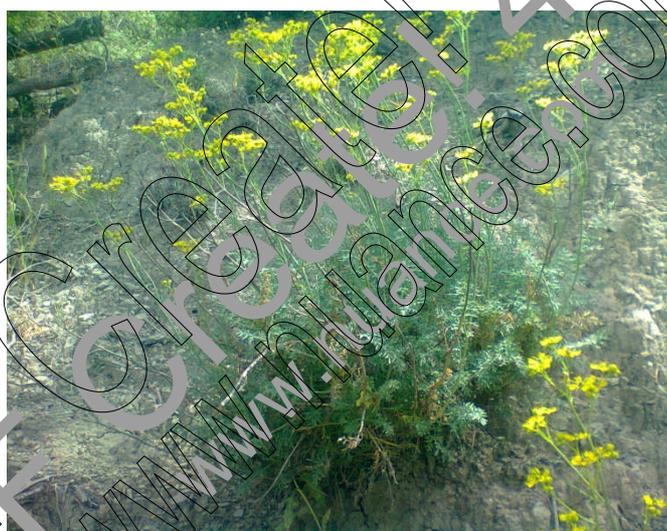


Figure n°02: La plante « *Ruta montana* L.»(Original).

## I.2.5. Utilisations principales

### I.2.5.1. En médecine traditionnelle

Les usages des différentes espèces du genre « Ruta » dans l'ensemble des pays du Maghreb sont innombrables et fréquent que ses trois plantes sont dangereuses. Cependant différentes variétés de « Ruta » en Afrique et dans d'autres continents entrent dans la composition de plusieurs préparations médicamenteuses utilisées en médecine traditionnelle.

En générale, les différentes parties de la plantes sont utilisées fréquemment à raison de ses propriétés emménagogues, abortives, antispasmodiques, analgiques et antiparasitaires (Ait Youssef, 2006). Le tableau ci-dessous présente les différents usages traditionnels de certaines espèces du genre « Ruta »

**Tableau n°2 :** Quelques usages traditionnels du « Ruta » (A. Youssef ,2006. Edith et al.1997).

Espèce	Pays	Partie utilisée	Voie	Usage traditionnel
<i>R. chalepensis</i>	Maroc	Plante entière	Externe Interne	-Infusé mélangé au jus de citron pour traiter les règles douloureuses -Affections de l'appareil respiratoire -Traitement des paralysies.
	Tunisie	Feuilles	Interne	-Décoté comme remède emménagogue -Mélangées au miel pour soigner les gerçures des seins. Abortif, tonique (estomac)
	Algérie	Sommités fleuries	Orale	- Rubéfiant



### I.2.5.2. En agroalimentaire

Les feuilles de la « Rue » dégagent une odeur forte et pénétrante que certains jugent désagréable. La « Rue » est pourtant une herbe condimentaire intéressante, que les anciens prisent beaucoup, elle entre dans la composition du « moretum » (condiment qui aromatisait de nombreux plats, voir le vin).

En quantité modérée ; les feuilles sont très bonnes dans les salades. (Couplan, 1985).

Les feuilles ou les jeunes rameaux hachés servent à aromatiser les salades, les sauces, les soupes, les légumes et les marinades, aussi pour les légumes conservés dans du vinaigre, le beurre aux herbes, les plats de viande (tout particulièrement d'agneau et de mouton, de volaille et de gibier), les farces aux herbes, les plats à base de poisson ou d'œufs, les légumes secs (pois fèves) les épinards, les champignons et les fromages blancs.

En combinaison avec d'autres herbes aromatiques, les feuilles peuvent également être tartinées, on peut les utiliser comme condiment pour cornichon ou pour aromatiser les tomates, elles constituent un ingrédient de la soupe à l'anguille, une spécialité de Homburg.

Dans la cuisine éthiopienne, la rue est aussi fréquemment rajoutée au café, au thé ou à toute autre boisson. (Teuscher et al, 2005).

En liquoristerie les italiens utilisent l'huile essentielle de la rue pour aromatiser un vin nommé « Grappa », elle aromatisse aussi les alcools de type vermouth.

Les feuilles de la « Rue » étaient utilisées en les bouillies avec de la mélasse pour la conserve, longtemps.

### I.2.5.3. 4 Autres emplois

Les rameaux et fruits servent à des fins décoratives par exemple : dans les bouquets secs, ou après dorure comme décoration de Noël.

### I.2.5.4. Données toxicologiques sur le genre « Ruta »

L'utilisation des sommités fleuries de l'espèce *Ruta chalepensis* et *Ruta montana* étaient considérées comme dangereuses en Algérie (Ait Youssef, 2006).

Sa toxicité interne est liée surtout à la présence de méthyl-nonyl-cétone (Ait Youssef, 2006). Citant les travaux de CHARNOT (la toxicologie au Maroc, 1945), décrit ainsi l'intoxication par la « Rue » (*R. graveolens*, *R. montana*, *R. chalepensis*)

Dans la phase initiale : gastro-entérite (diarrhées aiguës, associées ou non à des vomissements), vertige et début de trouble de conscience, tuméfaction de la langue, et salivation abondante. Une évolution fatale est possible, des cas d'empoisonnement mortels ont été décrits bien que rares. (Ait Youssef, 2006).

Cependant, en qualité d'épice, les feuilles de rue doivent être utilisées qu'en très infimes quantités et absolument évitées en cas de grossesse

La prise en usage interne à forte dose, la rue peut provoquer une inflammation des muqueuses (bouches, gorge, estomac, intestin grêle et l'utérus ...), un saignement de nez et des gencives, des douleurs articulaires. (Wolfgang et al. 2010).

Toxicité externe : La présence des furanocoumarines donnent un caractère photo toxique ou photosensibilisant, ce type peut avoir lieu après un simple contact avec la plante dans son environnement naturel (Bruneton, 1993). En effet sur la peau, la « Rue » peut provoquer des éruptions cutanées et des inflammations avec formation des cloques, cette réaction de la peau au contact des espèces du genre « Ruta » étant liée à la présence de furocoumarines. (Ait Youssef, 2006).



Figure n°03 : phototoxicité par « Ruta montana L.» (Original).

#### I.2.5.5. Des travaux antérieurs sur le genre « Ruta »

De nombreux travaux ont été réalisés sur les « Ruta L », aboutissant à l'identification des différents métabolites secondaires appartenant aux classes chimiques extrêmement variées dont le but de les valoriser dans différents domaines. Cependant, pratiquement tous les composés caractéristiques ont pu être mis en évidence dans le genre « Ruta » à l'exception des substances amères dites tétranorterpénoides (Benkiki, 2006).

La grande diversité des composés chimiques caractéristiques des « Ruta » permet d'isoler des alcaloïdes, des coumarines, des flavonoïdes, des terpènes, ainsi que l'utilisation de la fraction volatile dans l'aromathérapie.

Le tableau ci-dessous illustre quelques exemples représentatifs des travaux antérieurs sur l'espèce « Ruta »

**Tableau n° 3 :** exemples des travaux antérieurs sur l'extraction et caractérisation de l'huile essentielle « *Ruta montana L.* ».

Région	Partie étudiée	Aspect étudié	Référence
<b>Mila</b>	Partie aérienne	-Isolement d'un nouveau dicoumarine, rutamontine, et deux autres rares furocoumarines : heraclenol et isopimpinellin.	Kabouche et <i>al.</i> (2002).
<b>Oran</b>	Partie aérienne	-Extraction de la fraction volatile -Quantification du rendement -Identification de la composition chimique -Activité antioxydante de l'huile essentielle	Djeridane et <i>al.</i> (2005)
<b>Oran</b>	Partie aérienne	-Extraction de la fraction volatile par hydrodistillation -Identification de la composition chimique de l'huile essentielle -Activité antioxydante de l'huile essentielle	Kambouch et <i>al.</i> (2008).
<b>Tipaza</b> Est d'Algérie	Partie aérienne	-Extraction de l'huile essentielle -Composition chimique de l'huile essentielle -Pouvoir insecticide et larvicide	Boutoumi et <i>al.</i> (2009).
<b>Mila</b>	Partie aérienne	-Extraction de l'huile par clevenger -Identification de la composition chimique de l'huile essentielle -Activité antimicrobienne des infections respiratoires	Belkacem et <i>al.</i> (2011).
Région subhumide de Mila et semi-aride d'Oum el bouaghi	Partie aérienne	-Extraction de la fraction volatile -Quantification de rendement -Composition chimique de l'huile essentielle -Activité antioxydante et Antimicrobienne de l'huile essentielle - Effet de l'environnement sur ces activités	Zellaghi et <i>al.</i> (2012).

**Chapitre II :**  
**Métabolites secondaires du genre**  
**« Ruta »**

## **I II.1.Introduction**

Les métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. Ils sont classés en quatre grandes catégories : les glucides, les lipides, les acides aminés et les acides nucléiques.

Les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Ils y jouent différents rôles, dont celui de moyen de défense contre les agressions externes. Cependant, ils ne sont pas toujours nécessaires à la survie de la plante.

Les produits du métabolisme secondaire sont en très grand nombre, plus de 200.000 structures définies (Hartmann, 2007) et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité. Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, une famille ou un genre de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique.

Les composés phénoliques, les terpénoïdes, les stéroïdes et les alcaloïdes sont des exemples de métabolites secondaires ; ils ont de nombreuses applications pharmaceutiques.

Les métabolites secondaires pré-lyés, du point de vue pharmacologique sont

Chaîne latérale a une molécule qui occupe une place importante dans la biosynthèse d'un spectre des métabolites secondaires aromatiques à propriétés pharmacologiques reconnues à travers les différentes classes de ces composés. Ils constituent un groupe de produits naturels qu'il convient d'explorer pour des propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et anticancéreuses Epifano et al. (2007).

## **II.2.Les Alcaloïdes**

### **II.2.1.Introduction**

Ils sont des substances organiques, les plus souvent d'origine végétale, azotées, basiques, on les rencontre chez des nombreux végétaux, ils peuvent être présents dans tous les organes, ils existent rarement à l'état libre mais le plus souvent ils sont combinés à des acides organiques ou à des tanins (Odile et al. 2007). Ils ont un poids moléculaire élevé (Mohr et al.1982).En formant des sels avec les acides. Ces molécules ont généralement une saveur amère, lorsqu'ils ont isolé les alcaloïdes se présentent le plus souvent sous l'aspect de cristaux, insolubles dans l'eau mais solubles dans les solvants organiques (Couplan, 2009)

Les alcaloïdes constituent à côté des coumarines, un second groupe de métabolites secondaires largement réponsus dans la famille des Rutacées et particulièrement dans le genre « Ruta » Mohr et al. (1982). Parmi ces métabolites on trouve de l'acide anthralinique, les quinolones, et surtout les furo-(2,3-b) quinoléines qui sont abondantes dans le genre « Ruta » Petit-play et al. (1982).

### II.2.2. Les alcaloïdes de « Ruta »

Représente (0,2 à 1,4 %), elles sont de quatre types différents, cités ci – dessous :

De type quinoléique : graveoline, graveoline.

De type furo et dihydrofuroquinoléique : skimminine, dictamine.

De type acridone : aborinine.

De type dihydrofuroacridine : rutacrudone, acétate de crav'crudonediol.

**Alcaloïdesquinazoleiques** : représenté par l'aborine, (Teusher et al. 2005)



- Dictamine

-Aborine-

Figure n°0 : Exemple de la structure chimique des alcaloïdes

## II.3. Les composés phénoliques

### II.3.1. Introduction

Près de 8000 composés naturels appartiennent à cette famille, ils ont en commun un noyau benzénique portant au moins un groupement hydroxyle. Selon le nombre d'unités présents, on les classe en composés phénoliques et polyphénols par abus, on les appelle indifféremment composés phénoliques ou polyphénols et comprennent essentiellement les phénols simples, les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins hydrolysables et condensés, les coumarines (Benkiki, 2006).

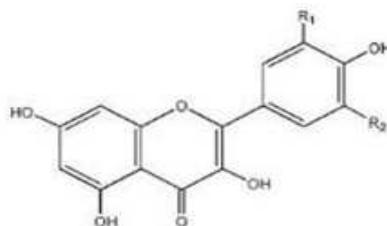


Figure n° 05: Structure chimique des composés phénoliques

### II.3.2. Les tanins

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structures variées, ayant en commun la propriété de tanner la peau, c'est -à-dire de la rendre imputrescible. Ces substances ont en effet la propriété de se combiner aux protéines, ce qui explique leur pouvoir tannant. Ils sont très répandus dans le règne végétal, ils peuvent exister dans divers organes, mais on note une accumulation plus particulièrement dans les tissus âgés ou d'origine pathologique, ils sont localisés dans les vacuoles quelquefois combinés aux protéines et aux alcaloïdes (Cofre et al. 2007).

Selon Couplan, il existe deux types principaux de tanins :

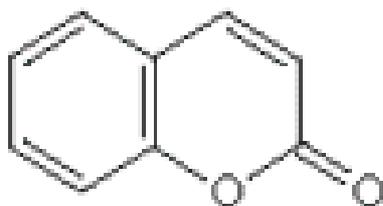
**Les tanins hydrolysables ou tanins hydrolytiques :** produisant par l'hydrolyse d'un sucre et de l'acide gallique (acide phénol) donnant par la suite du pyrogallol.

**Les tanins non hydrolysables (tanins condensés) :** ils sont répandus que les premiers, produisent par cristallisation sèche de pyrocathécol. Ces tanins ont une structure très voisine des flavonoïdes mais ne comportent pas de sucre dans leurs molécules, ils ont tendance à se polymériser pour donner des produits de coloration rouge ou brune (Odil et al. 2007).

### II.3.3. Les coumarines

La coumarine est une substance à odeur de vanille, présente dans certains végétaux sous forme d'hétérosides (Couplan, 2009). Ce sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base benzo-2-pyrone. Dans les plantes, on les rencontre dans les Apiacées, Asteracées, Fabiacées, Rosacées, Rubiacées, les Rutacées, et les Solanacées (Smyth et al, 2009). Les coumarines appartiennent à la classe des composés phénoliques, elles constituent avec les flavonoïdes, les chromones et les isocoumarines, un très vaste ensemble de substances (Waterman et al. 1983). Selon Sith et al. 2009, du point de vue structural ; on les classe en :

- Coumarines simples avec des substituants sur le cycle du benzène
- Les furanocoumarines
- Les pyranocoumarines
- Les coumarines dimères.



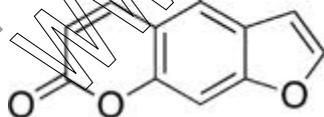
**Figure n° 06:** Structure de base d'une coumarine.

Les Rutacées élaborent des furanocoumarines de structures complexes, leur conférant des propriétés photosensibilisantes notoires. Ces phénomènes de photosensibilité surviennent après un contact avec la plante, suivi d'une exposition au soleil, de plus, ils sont accentués par l'humidité. Les espèces particulièrement en cause sont les plantes sauvages, mais qui sont aussi souvent proposées dans les jardinerie comme la « Rue », *Ruta graveolens* L. (par ailleurs réputée abortive). (Boutineau, 2010).

Selon Teusher 2005, les coumarines actives qui se localisent dans les feuilles de « Rue » sont les suivantes :

#### Furanocoumarines

Comme principaux constituants, le bergaptène (0,01 à 0,12 %), le psoralène (0,01 à 0,07 %), la xanthoxine (0,005 à 0,005 %) accompagnés de dérivés phényles comme la chalcipérolène et le 5-géranyloxy-psoralène.



**Figure n°07 :** Structure chimique de bergaptène.

#### Coumarines

dérivés hydroxycoumariniques comme la coumarine l'ombélliférone, l'herniarinone, la gravelliférone, la rutacultine, la 8-méthoxygravelliférone et la 3-(1,1-diméthylallyl)-harniarine, accompagnés également d'hydroxycoumarines dimères comme la dophnoritine et son glucide, la dophnorine.

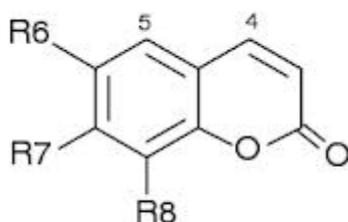


Figure n° 08 : Structure chimique d'ombélliférones.

### Dihydrofuranocoumarines

Principalement la rutine (0,9%) et son glucide la rutinose (0,2 %) accompagnés de la rutanarine (acétate de chalépine, jusqu'à 0,1 %)

### Pyranocoumarines

Représentés par la xanthylétine.

Figure n° 09 : Structure chimique de xanthylétine.

### II.3.4. Les flavonoïdes

Ils sont des pigments quasi-universels des végétaux supérieurs responsables de la coloration des fleurs et des fruits, ils dérivent tous de 2-phénylchromone, et existent le plus souvent à l'état naturel sous forme d'hétérosides : les flavonoïdes. Ils sont très largement répandus dans le règne végétal, et on les retrouve en abondance surtout dans les organes jeunes : feuilles et boutons floraux (Axel et al). Pour attirer les pollinisateurs et disperseurs de graine, ils sont représentés un système de défense contre les organismes micro pathogènes.

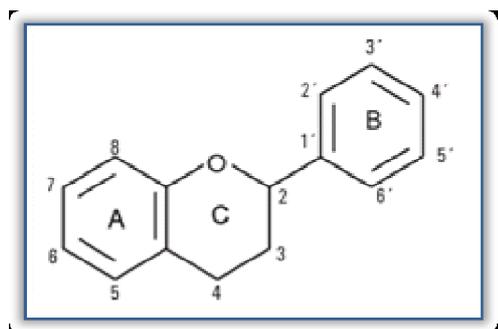
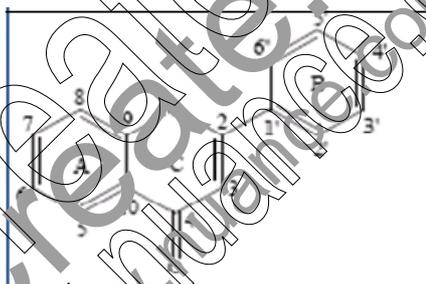


Figure n° 10: structure de base des flavonoïdes.

Ils ont plusieurs propriétés biologiques : anti-inflammatoires, anticancéreuses, analgésiques.....etc.

On trouve chez « Ruta » des flavonoides glucosyles appartenant en particulier au groupe des flavones comme la Rutine et Quercitine.



	5	6	7	4'
Apigénine	OH	-	OH	OH
Lutéoline	OH	-	OH	-

Figure n°11 : Structure de base des flavones.

**Rutine :**( Rutoside) c'est le rhamnoglucoside en 3 du quercétol (Axel et al)

## II.4. Les huiles essentielles

### II.4.1. Définition et rôle écologiques

Les huiles essentielles (= essences = huiles volatiles) sont : « des produits de composition généralement assez complexe renferment les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation. Pour extraire ces principes volatils, il existe divers procédés. Deux seulement sont utilisables pour

la préparation des essences officinales : celui par distillation dans la vapeur d'eau de plantes à essence ou de certains de leur organes et celui par expression à froid ». (Bruneton, 1999).

D'après (Naves, 1974), aucune des définitions des huiles essentielles n'a le mérite de la clarté, ni celui de la précision. Cet auteur définit les huiles essentielles comme des mélanges de divers produits issus d'une espèce végétale, ces mélanges passant avec une certaine proportion d'eau l'or d'une distillation effectuée avec un courant de la vapeur d'eau.

La norme AFNOR T 75 – 006 (Février 1998). A donné la définition suivante d'une huile essentielle : « produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques pour les deux premiers modes d'obtention ; elle peut subir des traitements physiques n'entraînant pas de changement significatif de sa composition [par exemple, redistillation, aération, ...] »

Cette définition par procédé est restrictive : car elle exclut aussi bien les produits obtenus par le procédé, extraction et ceux – ci occupent une place considérable sur les marchés de la pharmacie, des produits d'hygiène et de l'industrie cosmétique, de la parfumerie ainsi que dans de nombreux secteurs de l'industrie agro-alimentaire.

#### **II.4.2.Composition chimique de l'huile essentielle**

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et éminemment variables de constituants qui appartiennent de façon quasi exclusive à deux groupes caractérisés par des origines bio-génétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane – beaucoup moins fréquents, d'autre part.

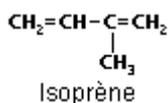
##### **II.4.2.1.Terpénoïdes**

Dans le cas des huiles essentielles, seuls seront rencontrés les terpènes les plus volatiles, c'est à dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée : mono- et sesquiterpènes

##### **Les monoterpènes**

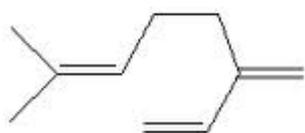
Constituants les plus simples de série, les monoterpènes sont issus de deux unités « isopréniques ». Il peuvent être acycliques ( myrcène , ocimène ), monocycliques (  $\alpha$  et  $\gamma$  – terpinène , p-cymène ) ou bicycliques ( pinène , camphène, ocimène). Ils constituent parfois plus de 90% de l'huile essentielle (citrus). Les variations structurales justifient l'existence de nombreuses molécules : alcools

( geraniol , $\alpha$ - terpineol , barnéol , trans – trans – franésol ) , phénols ( thymol ) , aldéhydes ( citronellal ) , cétones ( carvone ,  $\beta$ - vetivone ) , esters ( acétate de cédrile), éthers ( 1,8 – cinéole ) . (Bekhchi et Abdelouahid, 2010).



Isoprène

Figure n°12 : isoprène



Acyclique : Myrcène

Monocyclique :  $\square$  terpinène

Bicyclique : Camphène

Figure n°13 : Exemple des composants monoterpéniques.

Lorsque la molécule est optiquement active, les deux énantiomères sont le plus souvent présents dans les plantes différentes. (Bruneton, 1999)

### Les sesquiterpènes

Ce sont des hydrocarbures de formule (  $\text{C}_{15}\text{H}_{24}$  ), soit une fois ou demie (sesqui-) la molécule des terpènes (  $\text{C}_{10}\text{H}_{16}$  ). Un groupe particulier de sesquiterpènes est représenté par les azulènes composés instables dont le nom vient de leur coloration bleue et qui sont importants en pharmacognosie en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires. Ces composés, non saturés, sont constitués par deux cycles penta et hepta carbonés. Nous retrouvons dans ce groupe le chamazulène (des essences de camomille et de matricaire).

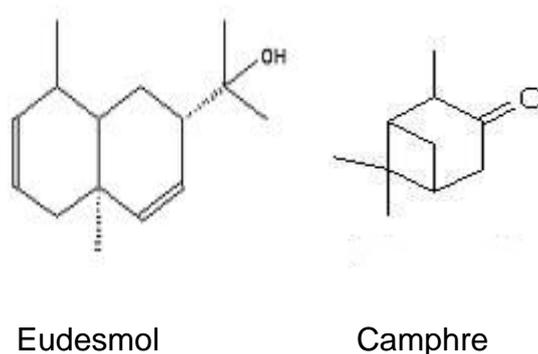
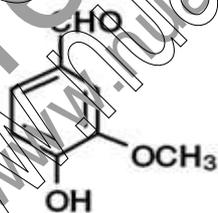


Figure n°14: Exemple des composants sesquiterpéniques.

#### II.4.2.2 Composés aromatiques

Les dérivés du phényl-propane ( - ) sont beaucoup moins fréquents que les précédents . Ce sont très souvent des allyle – et propényl-phénol , parfois des aldéhydes n caractéristiques de certains huiles essentielles d'Apaceae ( anis fenouil , persil , etc.... : anéthol anisaldéhyde , apiol , méthyl – chavicol... ) mais aussi de celles de girofle , des la muscade , de l'estragon , de l'acore , des cannelles , etc. on peut également rencontre dans les huiles essentielles des composés en - comme la vanilline ( assez fréquente ) ou comme l'antranilate de méthyle . (Bruneton, 1993).



Vanilline

Figure n°15 : La vanilline.

#### II.4.2.3. Composés d'origine diverses

Lors de leur préparation des huiles essentielles ,certains composés aliphatiques , de faible masse moléculaire , sont entrainés lors de l'hydrodistillation ( carbures , acides , alcools , aldéhydes , esters ... ) ( Bruneton , 1993 ) . Les différents composés sont assez stables aux températures ambiantes.

### II.4.3. La composition chimique de l'huile essentielle de « Ruta »

L'huile essentielle de la rue (0,4 – 1,2%). Le mode d'extraction de cette huile est l'entraînement à la vapeur d'eau avec un rendement de 0,6% à partir de la « Rue » fétide (*Ruta graveolens*) et 0,75 à 1,2 % à partir de « *Ruta montana L.* ». (Anonyme). Comme principaux constituants on cite :

- Le nonan -2-one (méthylheptylcétone) à 3-60%
- L'undécan-2-one (méthylnonylcétone) à 5- 85 %, ces dernières proportions varient vraisemblablement selon les races chimiques.
- L'acétate de 2 nonyl et l'acétate de 2- undécyl accompagné de décan -2-one , propionate de 2-undécyl , d'isobutyrate de 2-nonyl, du 2 méthylbutyrate de 2-nonyl , de prégeinérène d'acide hescadécanique et de l'eucuphénol . (Teuscher et al. 2005).

### II.4.4. Méthodes d'extractions de l'huile essentielle

#### II.4.4.1. L'hydrodistillation

L'hydrodistillation proprement dite, est la méthode qui a été adoptée par AFNOR (2000) pour l'extraction d'une huile essentielle.

Le principe de l'hydrodistillation correspond à une distillation hétérogène. Le principe consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé [turbodistillation]) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite portée à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité. Dans une variante du procédé matériel végétal est broyé *in situ* (turbo – extracteur). (Bruneton, 1999).

Certaines précautions sont à prendre pour mieux conduire l'opération :

Dans le cas du chauffage à feu nu, il faut veiller à ce que la quantité d'eau soit suffisante et que la couche supérieure de la charge ne soit jamais soumise à une surchauffe.

L'alambic doit être chargé de manière à permettre un mouvement suffisamment libre de la plante dans l'eau. Ceci contribue à augmenter la surface de contact entre la vapeur et la plante.

Il faut veiller à réduire la durée de distillation pour diminuer les phénomènes de réaction avec l'eau (hydrolyse) et de décomposition. En effet certains composés sont facilement hydrolysables dans les conditions d'hydrodistillation ; c'est le cas des esters d'alcools tertiaires par exemple. (Benjilali, 2004).

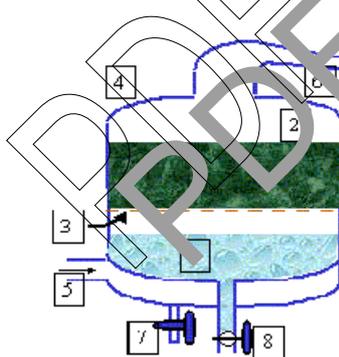


Figure n°16 : montage d'hydrodistillation (Originale).

#### II. 4.4.2.L'entrainement à la vapeur d'eau

Le matériel végétal, se trouve à une distance adéquate du fond de l'alambic. La partie inférieure de celui – ci est remplie d'eau. Le niveau de cette dernière doit permettre d'éviter tout contact entre l'eau et la plante. (Benjilali, 2004). Les particules de vapeur d'eau, se dirigeant vers le haut, font éclater les cellules contenant l'essence et entraînent avec elles les molécules odorantes. La vapeur passe ensuite à travers un récipient réfrigérant où la température diminue, provoquant le détachement des molécules huileuses des particules de vapeur, qui se condense en eau. L'huile et l'eau se séparent du fait de leur poids spécifique différent.

(Fadelouahid et Bekhchi, 2010).



Légende :

- 1- eau ;
- 2- matériel végétal ;
- 3- tôle perforée ;
- 4- couvercle ;
- 5- vapeur surchauffée ;
- 6- col de cygne (conduite vers le Condenseur) ;
- 7- purge du fond chauffant ;
- 8- purge de l'alambic.

**Figure n°17** : coupe schématique d'un montage de l'entraînement à la vapeur ou ( vapo - hydrodistillation ). (Benjlali , 2004 )

#### II.4.4.3.L'hydrodiffusion

L'hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur d'eau. Dans le cas de l'hydrodistillation consiste à pulser de la vapeur d'eau à faible pression à travers la masse végétale de haut vers le bas. La composition des produits obtenus est sensiblement différente de celle des produits obtenus par les méthodes classiques mais le procédé permet un gain de temps et d'énergie (Bruneton, 1999)

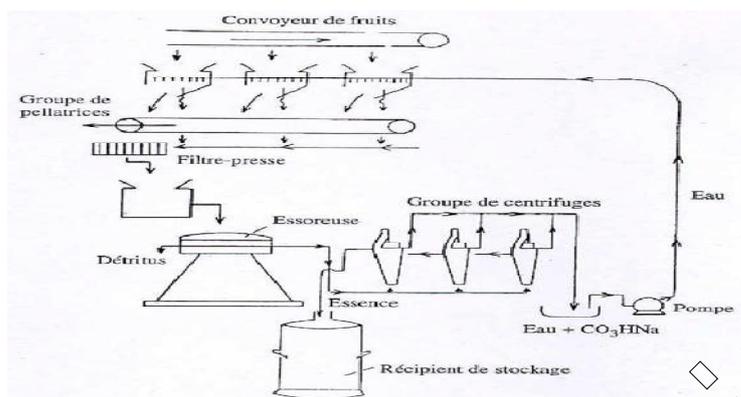
L'hydrodiffusion et la vaporisation ne constituent pas les seuls mécanismes mis en jeu lors de l'hydrodistillation. Il faut leur associer la décantation qui fait intervenir une vitesse de transfert de matière entre deux phases liquides. L'isolement de composés volatils après leur distillation est déterminé dans une large mesure par leur degré de solubilité dans l'eau. En conséquence, l'eau résiduelle peut être plus ou moins saturée en constituants polaires selon la difficulté de séparation des phases. Celle-ci peut avoir trois origines :

Une partie de l'huile distillé est dissoute dans l'eau , soit 1% environ de la fraction décantée , rarement plus de 2% et exceptionnellement supérieure à 5% dans le cas de certains composés polaires phénoliques . Une autre fraction est émulsionnée dans l'eau, le plus souvent de l'ordre de 10% ; Enfin une quantité est fortement émulsionnée avec l'eau et des molécules organiques tierces, à l'interface huile / eau elle peut être supérieure à 10%.

La séparation de l'huile essentielle après condensation est en fait l'étape déterminante pour recueillir les composés préalablement libérées.

#### II.4.4.4.L'expression à froid

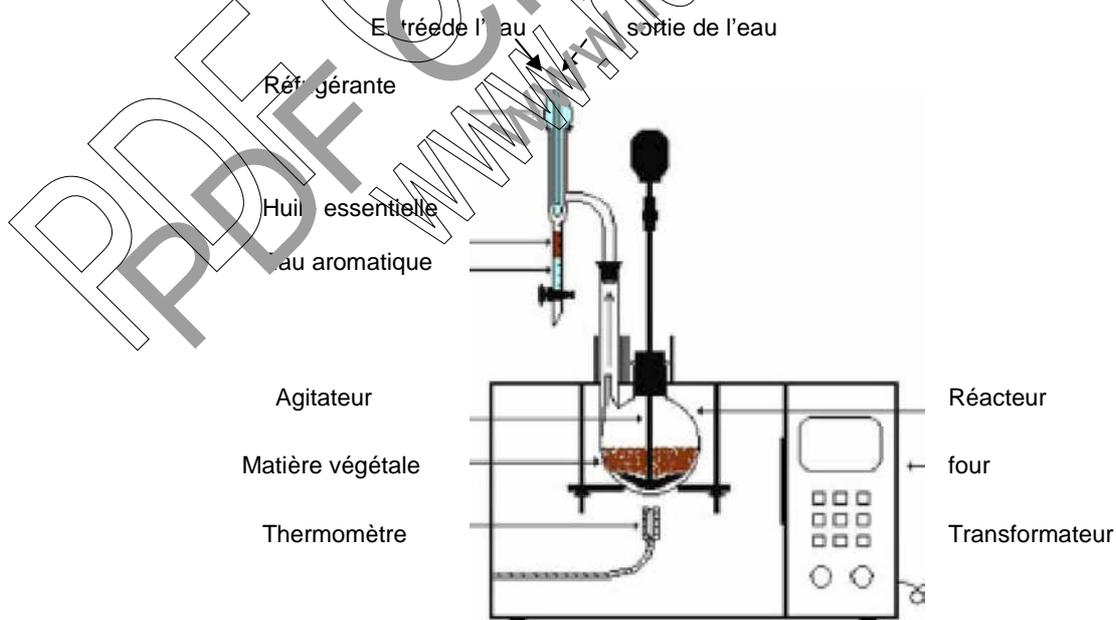
L'expression à froid est réservée à l'extraction des composés volatils dans les péricarpes riches qui consiste à déchirer les péricarpes riches en cellules sécrétrices. L'essence libérée est recueillie par un courant d'eau et reçoit tout le produit habituel de l'entraînement de la vapeur d'eau, d'où la dénomination d'huile essentielle. (Anonyme).



**Figure n° 18** : Schéma du procédé de récupération de l'huile essentielle de citron et autres agrumes (Martini et Seiller, 1999).

#### II.4.4.5. L'hydrodistillation assistée par micro – onde

Il existe divers exemples d'application de cette technique à l'extraction de certains organes végétaux : épices de *Cominum cyminum* L. et *Zerthoxylum bungeaum* L., Lypose, Sarriette, Marjolaine. L'avantage essentiel de ce procédé est de réduire considérablement la durée de distillation (ramenée à quelque minute) et incrémente le rendement d'extrait. Toutefois, aucun développement industriel n'a été réalisé à ce jour. Il semble que les problèmes technologiques concernant la mise en œuvre d'un générateur de rayonnement haute fréquence susceptible d'irradier un volume important. Nombre d'expérimentation stipulent l'intervention conjointe d'un solvant organique (tétrachlorure de carbone, dichlorométhane, hexane, éthanol) sans en préciser la mise en œuvre. (Lagunez, 2006)



**Figure 19** : principe schématisé de l'appareillage de système de l'hydro distillation sous micro ondes. (Wang et al .2006).

#### II.4.4.6.Extraction par microémulsion

Les microémulsions n'ont pas encore reçu beaucoup d'application industrielle, mais cette situation devrait évoluer rapidement si l'on en croit les nombreuses utilisations potentielles citées dans la littérature (Schwuger et al. 1995).

En fonction de leurs formulations, les systèmes eau-huile-tensioactifs présentent à l'équilibre, une ou plusieurs phases : soit une microémulsion seule, soit une microémulsion avec une phase huileuse ou une phase aqueuse, soit une microémulsion à la fois avec une phase huileuse et une phase aqueuse.

En présence des tensioactifs en proportions suffisantes et parfois d'un mélange de composés amphiphiles (Tensioactifs plus Co-tensioactifs), deux liquides non miscibles (typiquement une phase huileuse et d'autre aqueuse) éventuellement en proportions comparables, peuvent former spontanément un liquide macroscopiquement homogène (mais microscopiquement hétérogène) donc transparent ou opalescent, thermodynamiquement stable, isotrope et en général par visqueux appelé microémulsion (Hoar et al. 1943).

**CHAPITRE III**  
**Les tensioactifs**

### III. Les tensioactifs

#### III.1.Introduction

La microémulsion est la combinaison de deux liquides non miscibles, dont le but d'obtenir ce système, il faut modifier la tension interfaciale entre les deux liquides, ceci est réalisé par l'ajout des molécules particulières dites agents de surface, amphiphiles, tensioactifs ou surfactants (Guiliano et *al.* (1981).

Dans ce chapitre nous aborderons d'après la littérature, une description générale des tensioactifs (Définitions, Classifications, propriétés....etc.).

#### III.2.Aperçus général

Les tensioactifs sont des molécules aux propriétés spécifiques (détergentes, mouillantes, solubilisantes...etc.) grâce à leur structure amphiphile, elles sont mises à profit dans de nombreuses applications industrielles. Et notamment dans les formulations des détergents et des cosmétiques. La structure des molécules permet de valoriser d'une part des matières premières issues de cultures céréalières et d'autre part d'oléagineux.

Depuis le début du 20<sup>è</sup> siècle, les tensioactifs sont aussi synthétisés à partir des ressources pétrochimiques. La moitié des tensioactifs produits actuellement sont des alkyl benzènes, viennent ensuite les tensioactifs synthétisés à partir des alcools gras.

Les tensioactifs notamment en tant que substances chimiques sont soumis à une législation spécifique impliquée par leur commercialisation, lorsqu'il s'agit de développer ces molécules ces aspects réglementaires doivent être considérés.

#### III.3.Définition

Les tensioactifs sont des substances solubles dans l'eau et ayant la propriété de se concentrer ou s'agréger aux interfaces entre l'eau et d'autres substances peu solubles dans l'eau, les corps gras notamment. Ils sont des molécules d'origine naturelle ou synthétique possédant d'une part une chaîne à caractère lipophile queue hydrophobe et d'autre part groupement à caractère hydrophile (appelé tête polaire). Ces composés sont dits amphiphiles.

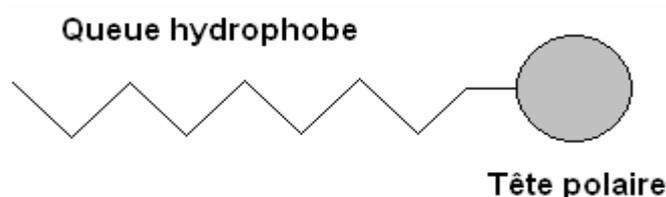


Figure n° 20 : Représentation schématique d'une molécule de tensioactif.

### III.4. Classification

Les agents tensioactifs sont répartis selon la charge qu'ils libèrent en solution aqueuse, il en existe ainsi quatre grandes classes : Cationiques, Anioniques, Amphotères, et non ioniques.

#### III.4.1. Tensioactifs cationiques

Ces surfactifs possèdent un ou plusieurs groupements qui s'ionisent en solution aqueuse en donnant naissance à un cation organique, et un anion de faible masse moléculaire. En pratique, ces tensioactifs appartiennent soit à la famille des amines grasses soit à celle des hétérocycles azotés. La propriété qui les distingue des autres tensioactifs et qui assure leur développement, est leur caractère bactéricide. De plus, ils ont la propriété physicochimique de s'adsorber très facilement sur les surfaces chargées négativement, normalement hydrophiles, pour se rendre lipophiles. Un exemple de tensioactif cationique :

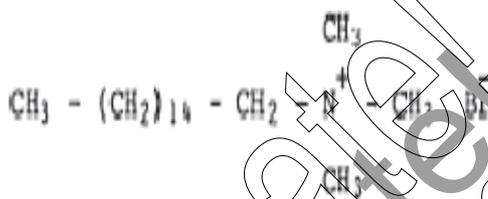


Figure n° 21 : Bromure d'hexadécyl triméthylammonium ou CTAB

#### III.4.2. Tensioactifs anioniques

Les tensioactifs anioniques s'ionisent en solution aqueuse pour fournir un anion organique tensioactif et un cation généralement de faible masse moléculaire, souvent un métal alcalin, un ammonium quaternaire ou une éthanol amine. Cette classe de surfactifs est la plus importante industriellement : elle représente environ 55 % de la production mondiale. Dans ce groupe on trouve les alkylbenzènesulfonates, les alkyl sulfates, les lignosulfonates, etc. Citons un exemple de composé anionique

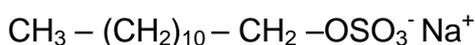


Figure n°22 : Le sulfate de dodécyle et de sodium ou SDS :

#### III.4.3. Tensioactifs amphotères

Les tensioactifs dits amphotères possèdent deux groupes fonctionnels, l'un Anionique et l'autre cationique, comme par exemple les alkyl aminoacides et les bétaïnes. Selon les conditions du milieu, ils peuvent s'ioniser en solution aqueuse en conférant au tensioactif un caractère anionique aux pH alcalins et un caractère

cationique aux pH acides. Au voisinage du point isoélectrique leurs solutions aqueuses ne sont pas conductrices car ils possèdent les deux charges à la fois. De plus, dans ces conditions, ils présentent la particularité d'avoir une solubilité et des propriétés tensioactives minimales.

#### III.4.4. Tensioactifs non ioniques

Durant les trois dernières décennies, les tensioactifs non ioniques ont pris chaque jour plus d'importance, jusqu'à représenter aujourd'hui plus de 35 % de la production mondiale. Ces surfactifs sont constitués de substances qui ne s'ionisent pas en solution aqueuse : leur charge est donc a priori nulle. Cependant, ils ont la particularité de posséder de longues chaînes polaires capables de former des liaisons hydrogènes avec des molécules d'eau. Ainsi, les molécules individuelles de tensioactif "monomères" et/ou les micelles peuvent établir des liaisons hydrogène avec les cations présents dans la solution aqueuse ( $H_3O^+$ , par exemple) et posséder une charge légèrement positive. Parmi eux nous citons seulement le groupe des polyoxyéthylène glycols : (POE notés symboliquement  $(CH_2CH_2O)_x$ ) (Nogueira, 2005).



Figure n° 23 : Structure de base des tensioactifs non ioniques.

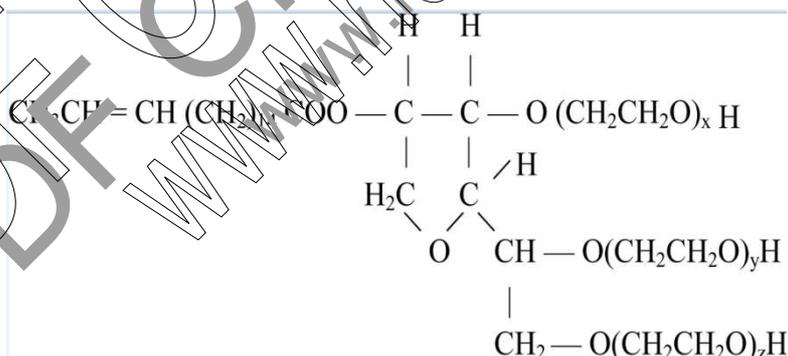


Figure n° 24 : Structure chimique de Tween 80.

### III.5. Propriétés

#### III.5.1. La tension superficielle

La tension superficielle, qui est une énergie par unité de surface, a pour origine la différence d'énergie d'une molécule suivant qu'elle est au sein de la phase liquide ou à la surface. En effet, une molécule en surface n'a pas l'environnement symétrique dont elle bénéficie au sein de la phase liquide: son énergie est plus grande à cause de la modification des forces de cohésion dans la région superficielle. Il en résulte qu'il faut fournir de l'énergie pour augmenter la surface d'un liquide. L'introduction dans la phase aqueuse d'un produit amphiphile, qui diminue l'énergie superficielle, se traduit par la concentration de ce produit à la surface, par minimisation de l'énergie. Cette concentration à la surface provoque une diminution de la tension superficielle dès les très faibles concentrations.

Lorsque l'adsorption superficielle devient notable et jusqu'à la saturation de la surface, la tension superficielle est une fonction linéaire décroissante du logarithme de la concentration. Lorsque la surface est saturée, la tension superficielle ne varie plus avec l'augmentation de concentration.

#### III.5.2. Adsorption aux interfaces

Un tensioactif est un composé chimique qui, dissous ou dispersé dans un liquide, possède la propriété surprenante de s'adsorber aux interfaces, ce qui détermine un ensemble de propriétés physico-chimiques d'intérêt pratique. Les molécules de tensioactifs ont tendance à s'orienter et se concentrer, aux interfaces de façon à accroître les interactions attractives (partie hydrophile/eau et partie lipophile/phase lipophile). Ce phénomène d'adsorption (concentration plus importante à la surface qu'à l'intérieur de la phase liquide) apparaît aussi bien aux interfaces liquide-liquide (eau-hydrocarbure ou huile), liquide-solide (eau-surface apolaire, huile-surface polaire) qu'aux interfaces liquide-gaz (eau-air). Cette adsorption du tensioactif provoque une diminution de la tension interfaciale entre les deux phases considérées selon la loi de Gibbs: la diminution de la tension interfaciale est fonction de la concentration en tensioactif à l'interface

(excès surfacique) et donc de l'aire occupée par le tensioactif à l'interface. Lorsque l'interface est saturée, la tension interfaciale est minimale et constante.

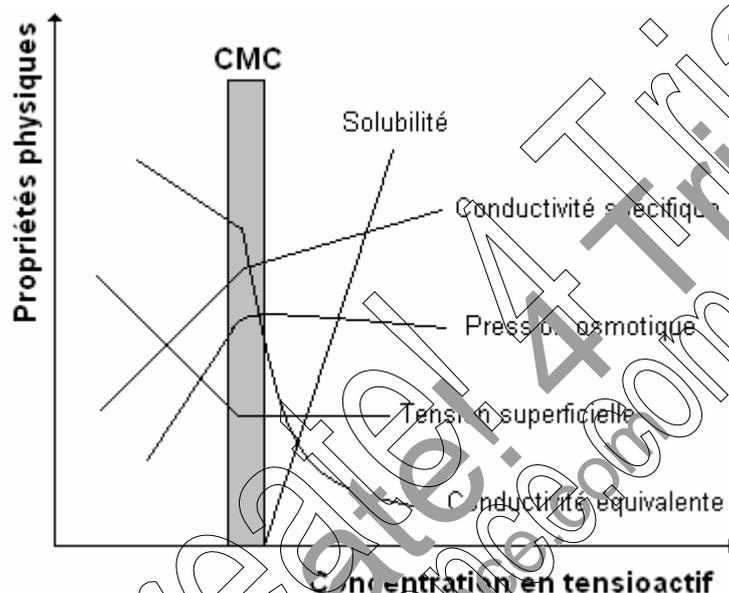
L'adsorption des tensioactifs aux interfaces et la diminution consécutive de la tension interfaciale sont responsables des deux phénomènes suivants : la dispersion et le mouillage (Larpen, 1995).

#### III.5.3. Concentration micellaire critique (CMC)

Avec l'adsorption aux interfaces, la propriété la plus intéressante des tensioactifs dans l'eau est certainement leur capacité à former des agrégats ordonnés, une fois que leur concentration dépasse un certain seuil, la concentration micellaire critique (CMC). Est alors définie comme étant la concentration au-delà de laquelle les molécules de tensioactifs s'autoassocient et s'arrangent sous forme d'agrégats particuliers appelés micelles.

La valeur de la CMC mesurée varie légèrement suivant la méthode retenue pour la déterminer. Expérimentalement, la CMC est déterminée par une rupture de pente sur une courbe représentant la variation d'une propriété en fonction de la concentration en tensioactif.

La connaissance de cette valeur permet donc de prévoir certains domaines d'applications pratiques de ces molécules (Rosen, 1989).



**Figure n°25:** Evolutions de différentes propriétés physico-chimiques d'une solution en fonction de la concentration en tensioactifs (Rosen, 1989).

#### III.5.4. Balance lipophile-hydrophile (H.L.B)

La balance hydrophile - lipophile (H.L.B.) est une caractéristique des tensioactifs. Elle est étroitement liée à la structure de la molécule et représente l'équilibre entre les groupements hydrophiles et lipophiles. Sa valeur est d'autant plus élevée que le tensioactif est plus hydrophile. Cette notion a été proposée par GRIFFIN en 1949

Aux environs de la valeur 10 il y a équilibre entre les caractères lipophile et hydrophile, les valeurs inférieures à 10 donnent des tensioactifs à prédominance lipophile. L'intérêt de cette classification, fondée sur la H.L.B., et qu'il est aisé de connaître, d'emblée, les principales propriétés des agents de surface.

Dans le cas d'émulsions de type eau dans huile, on utilise des tensioactifs de faible H.L.B. ( $H.L.B. < 7$ ). Pour des émulsions de type huile dans l'eau, on choisit des tensioactifs de plus forte H.L.B. ( $H.L.B. \geq 8$ ). La valeur optimale de H.L.B. du tensioactif doit être affinée en tenant compte de H.L.B. de l'huile.

Selon Griffin, les valeurs H.L.B. sont additives. Lorsque deux surfactifs sont mélangés, la H.L.B. du mélange prend une valeur intermédiaire entre les H.L.B. des deux surfactifs. (Nogueira, 2005).

Les caractéristiques des tensioactifs selon les HLB, leur confèrent des propriétés particulières à l'échelle moléculaires sont résumées dans le tableau n°

**Tableau n°04 :** Applications des tensioactifs selon les HLB, Holmberg et *al.* (2003)

HLB	Applications
3 - 6	-Emulsifiant ; (eau/huile)
7 - 9	-Agent mouillage ;
8 - 14	-Emulsifiant (huile/eau) ;
9 - 10	-Détergent ;
10 - 13	-Solubilisan
12 - 17	-Dispersant.

La propriété de solubilisation est la plus intéressante dans l'extraction par coacervat: selon le Tableau ci-dessus, les valeurs de HLB les plus favorables sont comprises entre 10 et 13.

### III.6.Solubilité

La solubilité des tensioactifs dans l'eau ou dans les hydrocarbures (couramment appelés huiles) varie en fonction de l'importance relative de leurs parties hydrophobe et hydrophile (H.L.B). En ce qui concerne la variation de la solubilité des tensioactifs dans l'eau avec la température, deux cas particuliers de température doivent être mentionnés (Lapeint, 1995).

#### III.6.1. Point de Krafft

Le point de Krafft est un paramètre caractéristique des tensioactifs ioniques il s'agit de la température au-dessous de laquelle aucune micellisation n'intervient. Il correspond également à la température à laquelle la solubilité des tensioactifs ioniques atteint la valeur de la concentration critique pour la formation de micelles. A partir de cette température, la solubilité augmente brusquement tandis que la CMC reste pratiquement constante.

### III.6.2. Point de trouble

En ce qui concerne les non ioniques, la solubilité est due aux liaisons hydrogènes de la chaîne polyoxyéthylénée. Cependant, l'énergie du pont hydrogène est telle qu'en chauffant il y a déshydratation, ce qui a pour effet de diminuer la solubilité. Ce comportement est à l'opposé de celui des anioniques dont la solubilité augmente avec la température. On n'appelle point de trouble la température à laquelle le non ionique en question devient insoluble. La solution micellaire se sépare en deux phases : les molécules de tensioactif s'associent pour former une phase concentrée en tensioactif, appelée « coacervat » (du latin coacervo s'entasser les uns sur les autres), qui est en équilibre avec une autre phase aqueuse à faible concentration en tensioactif, appelée phase diluée, ou la concentration est de l'ordre de la CMC. (Abdelli, 2010).

### III.7. Solubilisation

D'un point de vue analytique, l'une des plus importantes propriétés des agrégats micellaires est leur capacité à solubiliser des substances de natures différentes (Mackay, 1987). A l'échelle moléculaire, la solubilisation consiste en une dissolution spontanée d'une substance (solubilisât) grâce à des interactions réversibles (électrostatiques, hydrophobes et/ou liaisons hydrogène) avec les micelles d'un tensioactif présent dans un solvant donné, afin de former une solution isotrope, thermodynamiquement stable, dans laquelle l'activité thermodynamique du solubilisât est réduite.

Les solutions micellaires permettent donc d'agir sur la distribution des solubilisats dans un système liquide car elles permettent, de plus, la concentration, la compartimentation et la localisation de ces substances. Des études ont été réalisées pour essayer de définir les sites de solubilisation dans la micelle à la nature et à la polarité de différents solubilisats (Nogueira, 2005).

### III.8. Les tensioactifs et les membranes végétales

#### III.8.1. Structure et constitution de la cuticule végétale

L'épiderme des plantes herbacées et des jeunes plantes ligneuses est recouvert de strates lipophiles, appelées cuticule, qui forment un revêtement protecteur, souple, imperméable à l'eau, tout en permettant des échanges gazeux avec le milieu extérieur par des orifices minuscules, appelés stomates.

La cuticule dans son ensemble est constituée de trois parties, comme montre la figure III.4:

- la cuticule proprement dite, formée de cutine, un bio polyester d'acides et d'alcools gras ;
- une couche cuticulaire assurant le lien entre la cuticule et la paroi cellulaire sous jacente;

- un dépôt de cires épicuticulaires, à la surface de la cuticule. Le terme épicuticulaire fait opposition au terme intracuticulaire qui qualifie les cires présentes dans les deux premières parties.  
(Stevens et Baker, 1987; Baudrand, 1995).

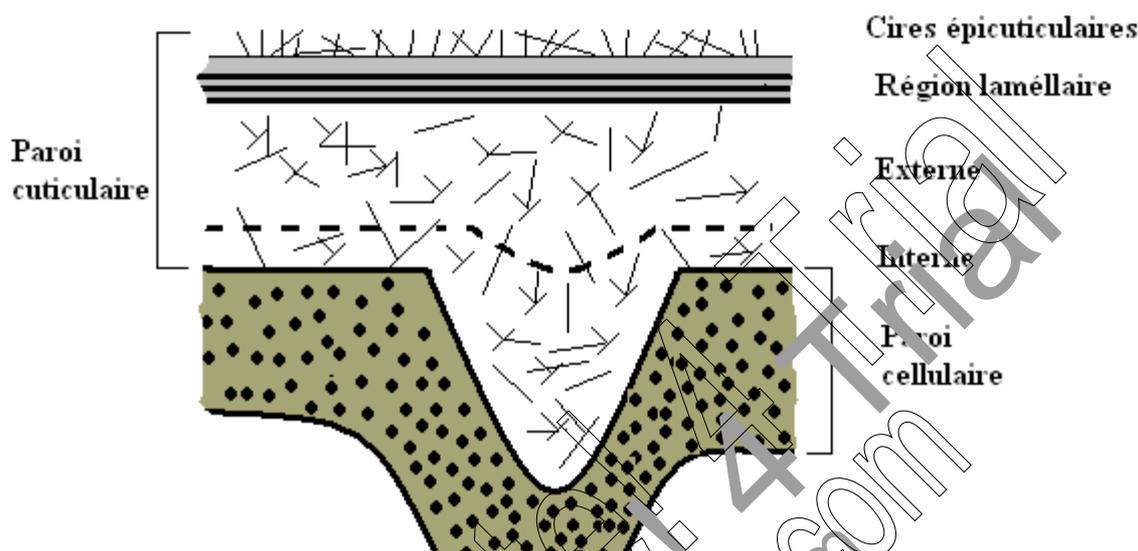


Figure n°26: Structure de la cuticule foliaire (Nogueira, 2005).

### III.8.2. Les principaux constituants de la cuticule et la membrane végétale :

Les cires cuticulaires végétales : ils sont essentiellement constitués d'aliphatiques, que l'on peut répartir schématiquement en deux groupes : (Stevens et al. (1987).

- Dans le premier groupe, on y trouve les composés les plus communs de type alcane ( - ), ester ( - ), acide ( - ), alcool primaire ( - ) et aldéhyde ( - ).
- Le deuxième groupe concerne des composés plus rares comme les cétones ( - ), les alcools secondaires ( - ) ou les  $\beta$ -dicétones ( - ), qui sont les plus souvent majoritaires dans les cires qui en contiennent.
- D'autres éléments mineurs non aliphatiques sont également rencontrés, il s'agit de composés cycliques ou polycycliques (triterpénoides), et présents sous forme d'alcools (stérols,  $\alpha$ -amyrine,  $\beta$ -amyrine, lupeol, erythrodiol), ou d'acides (ursolique, olenolique)

Cette diversité dépend de nombreux facteurs comprenant :

- Le type de cires épicuticulaires
- La partie de la plante considérée (feuille, tige, fruit ...etc.) ;
- L'espèce végétale ;
- L'âge ;
- La saison ou encore les conditions agro-climatiques.

Comme la membrane cellulaire est constituée d'une bicouche lipidique contenant des molécules amphiphiles telles que les phospholipides et les stérols dans laquelle sont incorporées de nombreuses protéines globulaires qui la traversent et pointe de chaque côté. La partie transmembranaire de ces protéines est hydrophobe, tandis que les parties exposées de chaque côté ont un caractère hydrophile. La membrane plasmique contient une protéine appelée aquaporine, qui forme des canaux permettant le passage d'eau à travers la bicouche lipidique. (Abdelli, 2010).

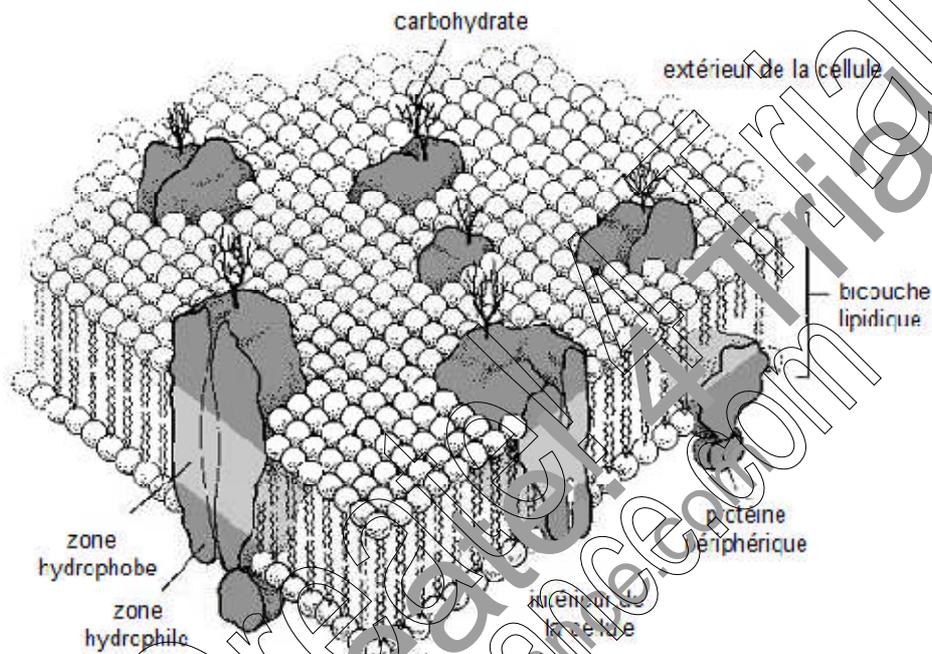


Figure n°27 : Structure de la membrane cellulaire (Abdelli, 2010).

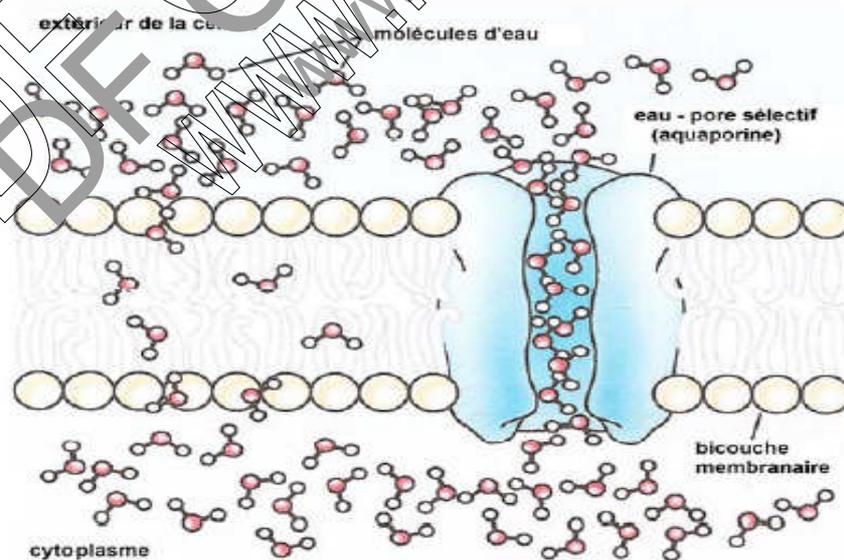


Figure n° 28: Schéma d'une aquaporine (Taiz, 2002).

### III.6.2. Action des tensioactifs sur la cuticule

Les interactions plantes-environnement induit des changements importants de la structure d'édifices supramoléculaires extracellulaires, telles les parois et les cuticules.

La zone épicuticulaire de la cutine étant en contact immédiat avec le milieu extérieur, sa nature chimique joue, évidemment, un rôle important dans les phénomènes d'étalement, de mouillage et de la pénétration de l'eau. C'est une surface hydrophobe, ce qui entraîne un mauvais mouillage avec l'eau. Mais un bon mouillage avec des solutions aqueuses contenant des agents tensioactifs convenablement choisis. Chamel et al. (1991).

La cutine est un biopolyester d'acides et d'alcools gras dépolymérisable. Cependant, il existerait dans cette région lipophile des zones de polarité élevée due à la présence des monomères de la cutine contenant des groupements carboxyles et hydroxyles. Ces zones constituent la voie, appelée voie polaire, de diffusion des molécules polaires, à travers les cuticules végétales.

La localisation des chemins préférentiels de la diffusion de l'eau par voie polaire à travers des cuticules végétales a été mise en évidence en utilisant des solutions aqueuses de nitrate d'argent. Après que la solution ait pénétré la cuticule et après précipitation des  $Ag^+$ , les dépôts noirs observés, permettent la localisation de ces chemins, comme montre la figure



**Figure n°29 :** Chemins préférentiels de diffusion de l'eau par voie polaire dans les cuticules végétales (Schreiber, 2005).

a: stomate d'une feuille non traitée;

b: stomate d'une feuille traitée avec une solution aqueuse de nitrate d'argent ;

c: trichome sécréteur d'huile essentielle non traité ;

d: trichome sécréteur d'huile essentielle traité avec une solution aqueuse de nitrate d'argent.

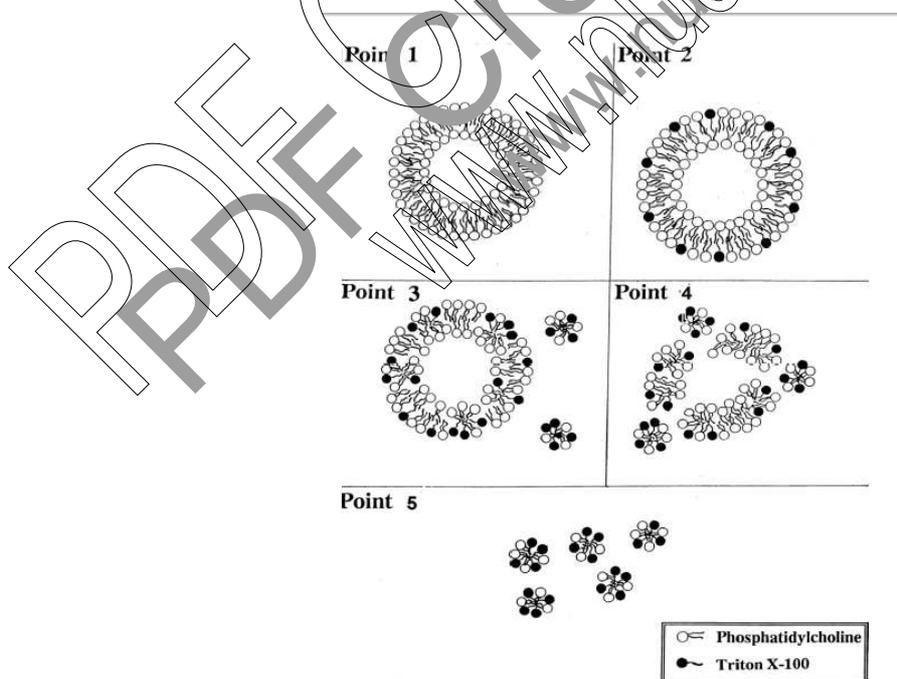
Les chemins préférentiels de la diffusion de l'eau par voie polaire sont donc situés à l'endroit des stomates et des trichomes sécréteurs.

Par ailleurs, des études similaires, menées en ajoutant des tensioactif à la solution aqueuse de nitrate d'argent, ont permis de constater une augmentation du nombre des dépôts d'argent sur la cuticule des trichomes sécréteurs et celle de la feuille .

Il a été montré, en outre, que la pénétration de la cuticule par la solution aqueuse de tensioactif est d'autant plus importante que la tension superficielle de la solution est petite. Il est permis alors d'admettre que le tensioactif solubilise les constituants des cires épicuticulaires et « ouvre la voie » à l'eau pour pénétrer les cellules végétales.

Bien que le principe de la solubilisation sélective par les tensioactifs des cires épicuticulaires ne soit pas bien élucidé, un mécanisme a été avancé. Varma et al. (2002).

- étape d'adsorption: à l'interface entre la feuille et la solution aqueuse du tensioactif, ce dernier « reconnaît » la portion soluble de la cire épicuticulaire et interagit par sa partie hydrophobe avec les constituants hydrophobes;
- étape de réorganisation: certaines propriétés physiques des cires sont altérées et conduisent à un affaiblissement de la barrière diffusionnelle;
- phase de pénétration: la solution pénètre les tissus végétaux, suite à la miscellisation de la cire épicuticulaire, ces étapes sont illustrées dans la Figure ci-dessous.



**Figure n°30:** Interactions tensioactif – bicouche lipidique et formation des micelles

Point 1: Bicouche lipidique ; Point 2: étape d'adsorption du tensioactif ; Points 3: étape de réorganisation; Points 4 et 5 : solubilisation de la bicouche lipidique (formation des micelles).

Lorsque les molécules du tensioactif sont mises en contact avec la bicouche lipidique, ils pénètrent dans celle-ci (point 2). Des micelles mixtes commencent à se former et après le détachement de certaines d'entre elles, des perforations apparaissent dans la bicouche lipidique (point 3). Enfin, le nombre des micelles détachés augmente de plus en plus (Point 4) jusqu'à la dissolution complète de la bicouche lipidique par le tensioactif (Point 5).

D'autre part, les protéines cuticulaires sont aussi capables de fixer toute sorte de molécules lipidiques, tels les tensioactifs, sans apparente spécificité. La couche protéique peut être modifiée en présence de molécules de tensioactif de faible poids moléculaire. En fonction de la nature des espèces, les interactions entre protéines et tensioactifs peuvent produire un renforcement ou un affaiblissement mécanique de l'interface. La diminution de la tension interfaciale observée après ajout de tensioactifs dans un système initialement stabilisé par des protéines montre que les petites molécules s'adsorbent rapidement. Tomas et al. (1999).

#### IV. Travaux antérieurs sur l'extraction des huiles essentielles en utilisant des agents tensioactifs

Le tableau ci-dessous montre quelques exemples de travaux qui ont été déjà réalisés sur l'extraction des huiles essentielles à partir de espèces végétales en présence des tensioactifs.

**Tableau n°05 :** Travaux antérieurs sur l'extraction des huiles essentielles en utilisant des tensioactifs (Abdell, 2010).

Espèce végétale	Résultats	Référence
<i>mentha sp</i> <i>Lavandula sp</i> <i>Rosa sp</i>	-augmentation de rendement en HE (30 à 41%) -pas de changements significatifs dans la composition chimique	Trandafilov et al. (1969)
<i>Rosa damascena Mill</i> <i>Rosa alba L</i>	-augmentation de rendement en HE (50%) - augmentation de rendement en huile essentielle (130 à 316%) -pas de changements dans la composition chimique	Gantchev et al. (1978) Baydar et al. (2005) Dobrev et al. (2007)
<i>Salvia officinalis</i>	-augmentation de rendement en HE (50%) -pas de changement qualitatif mais quantitatif dans la composition de l'HE.	Boudina et al. (2009)

## Partie expérimentale

**CHAPITRE 1 :**  
**MATERIEL ET METHODES**

## I. Objectif de travail

L'objectif de ce travail est l'extraction des huiles essentielles de « *Ruta montana L.* » provenant de deux régions différentes (Batna et Blida) par une hydrodistillation (type clevenger), tout en comparant leurs rendements, leur composition chimiques, ainsi que leurs pouvoirs antioxydants.

Dans un autre axe, ce travail consiste à extraire l'huile essentielle de la même espèce récoltée de la région de Batna en présence des agents surfactants et de comparer les rendements, la composition chimique, ainsi que l'activité antioxydante avec ceux obtenus en absence des tensioactifs.

## II. Matériel chimique et verrerie

Les produits chimiques et verrerie utilisés dans notre recherche sont présentés dans le tableau n°06

**Tableau n°06 :** Les produits chimiques et verrerie utilisés pour la réalisation de travail

Produits chimiques	Verrerie
<ul style="list-style-type: none"> <li>-CTAB/Tween</li> <li>-Méthanol</li> <li>-Ethanol</li> <li>-Diéthyléther</li> <li>-Bicarbonate de sodium</li> <li>-Folin Ciocalteu</li> <li>-Folin Denis</li> <li>-DPPI</li> <li>-Sulfate de Sodium</li> <li>-Acide malique</li> <li>-Acide tannique</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Bécher</li> <li>-Tubes à essais</li> <li>-Pipettes Pasteur</li> <li>-Micropipettes</li> <li>-Pipettes graduées</li> <li>-Fioles de différents volumes</li> <li>-Ampoule à décanter</li> <li>-Ballons de différents diamètres</li> <li>-Piluliers</li> <li>-Entonnoirs</li> <li>-Eprouvettes à différents volumes.</li> </ul>

- Analyse des constituants chimiques  
La plus part des réactifs chimique qu'on a utilisé lors de notre expérimentation ont été acquis directement à l'analyse et n'ont plus nécessite de contrôle ou purification à cause de ses plus haut degrés de puretés.

## III. Matériel végétal

### III.1. Description de la plante utilisée pour l'extraction des huiles essentielles

La plante que nous avons utilisée pour notre expérimentation est : la Rue des montagnes (*Ruta montana*, Aourmi, fidjelte el djbel) ; elle s'est caractérisée par des feuilles glauques finement découpées en segments linéaires, capsules globuleuses 3,5×4mm à loges obtuses, très brièvement pédicellées. Petite fleurs 5 – 6mm à pétales denticulés sur les marges.

Le tableau ci-dessous nous donne la classification de la plante étudiée

**Tableau n°07** : Classification de la plante étudiée (Guignard, 2001).

<b>Règne</b>	<b>Plantea</b>
<b>Embranchement</b>	<i>Spermaphytes</i>
<b>S. embranchement</b>	<i>Angiospermes</i>
<b>Classe</b>	<i>Dicotyledones</i>
<b>S. classe</b>	<i>Dialypetales</i>
<b>Série</b>	<i>Disciflores</i>
<b>S. série</b>	<i>Diplostemones</i>
<b>Ordre</b>	<i>Spindales (Rutales)</i>
<b>Famille</b>	<i>Rutacées</i>
<b>S. famille</b>	<i>Rutiodées</i>
<b>Genre</b>	<i>Ruta</i>
<b>Espèce</b>	<i>Ruta montana</i>

### III. 2. Récolte et identification de la plante

La « Rue des montagnes » récoltée de Batna a été identifiée par Mr Bensassi Mohammed, Botanicien au niveau de Parc national de Belezma(Batna). Une seule récolte à partir de populations différentes des parties aériennes de notre espèce a été réalisée le 30 Mai 2012 à 13 :00 h, durant la période de floraison de la plante dans son habitat naturel situé dans la région de Fesdis (Wilaya de Batna). Les feuilles sont ensuite séparées des tiges puis séchées à l'air libre, à l'abri de la lumière, et l'humidité, et enfin conservées jusqu'au moment de l'extraction.

La deuxième cueillette à partir de la région de Blida a été identifiée par Monsieur Metall Maitre assistant au niveau de laboratoire de biologie végétale (Département d'agronomie) à l'Université Saad Dahleb-Blida. Une seule récolte à partir des populations différentes de cette espèce a été faite le 19 Mai 2012 à 11 :30h, durant la période de floraison de la plante dans son habitat situé dans la région de Hammam Melouane (Wilaya de Blida).

### III.3.Présentation des deux zones d'études

- **Vue sur le Parc national de Belezma**

Le parc national de Belezma se situe sur la partie orientale de l'Algérie du Nord, il correspond à un chaînon montagneux marquant le début de massif

des Aurès. Il s'étend sur une superficie de 26,250 hectares, et représente un territoire de configuration allongée, étiré d'orientation sud-ouest/nord et à proximité de la ville de Batna.

- Flore remarquable : Le statut de la flore du parc nationale de Belezma est présenté dans le tableau n°08

**Tableau n°08** : Statut de la flore du parc national de Belezma( Hamchi, 2004)

Espèces	Nombre
-Espèces floristiques recensées	510
-Espèces endémiques	09
-Espèces protégées	10
-Espèces assez rares	16
-Espèces rares	14
-Espèces très rares	03
-Espèces rarissimes	14
-Planes médicinales	120
-Champignons	29
-Les lichens	05



Figure n°30 : « *Ruta montana L.* » région de Batna (Original).

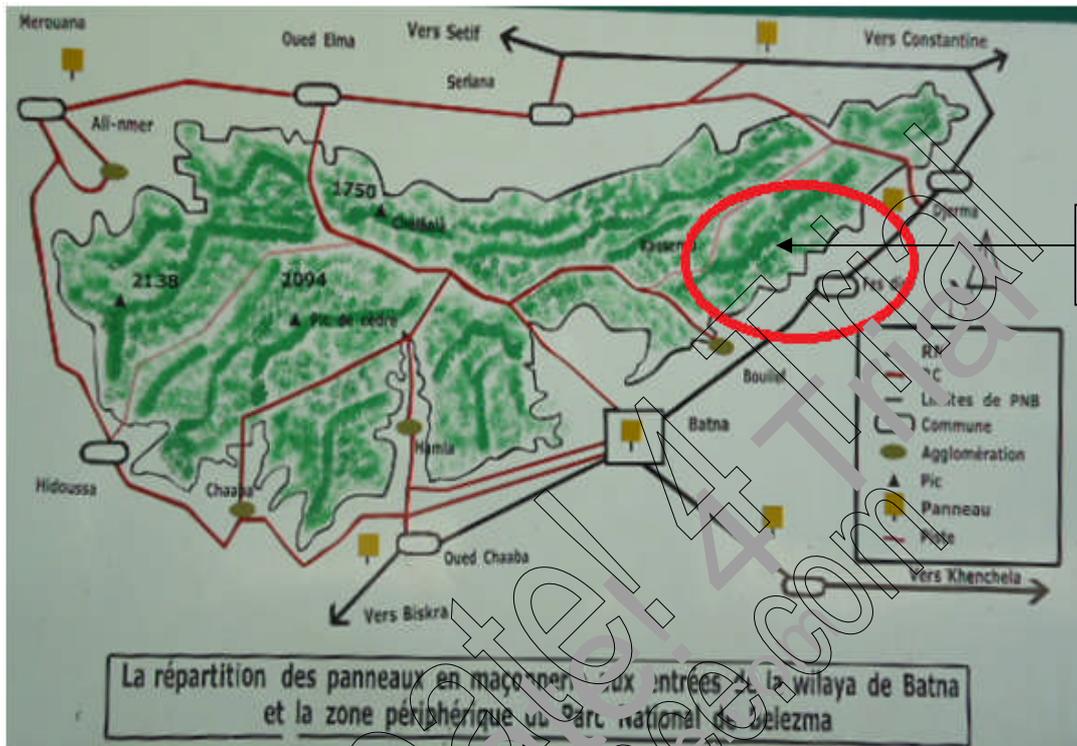


Figure n°31: Carte géographique de Parc national de Belezma (Original).



Figure n°32 : « *Ruta montana L.* » de Hamman e l'elouze-Blida (Originale).

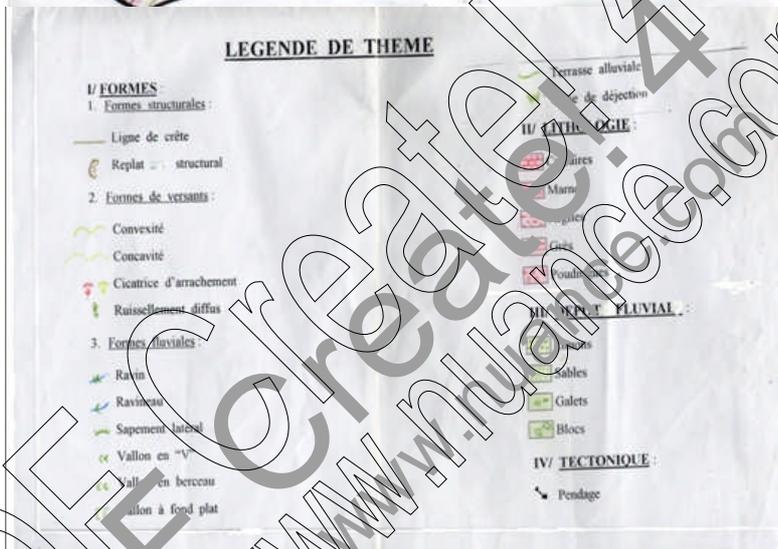
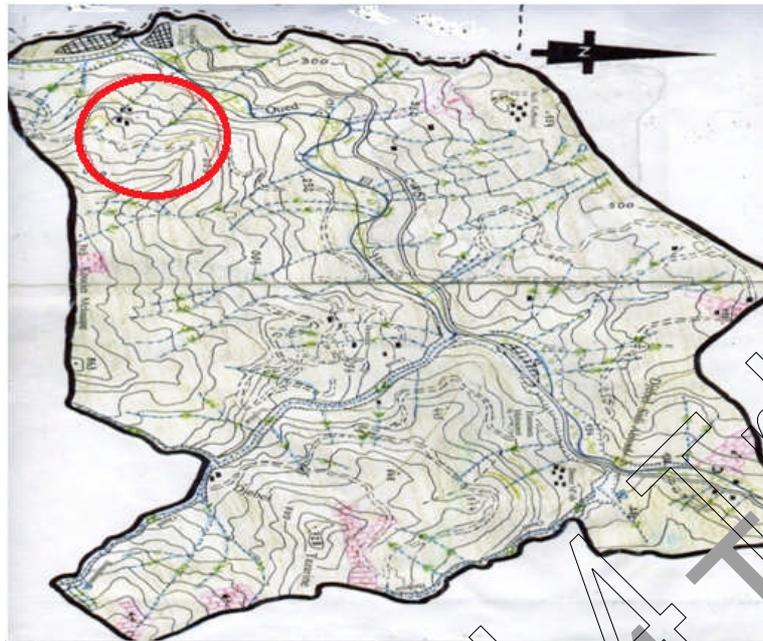


Figure 32 : Carte géographique de la région Hammam Melouane

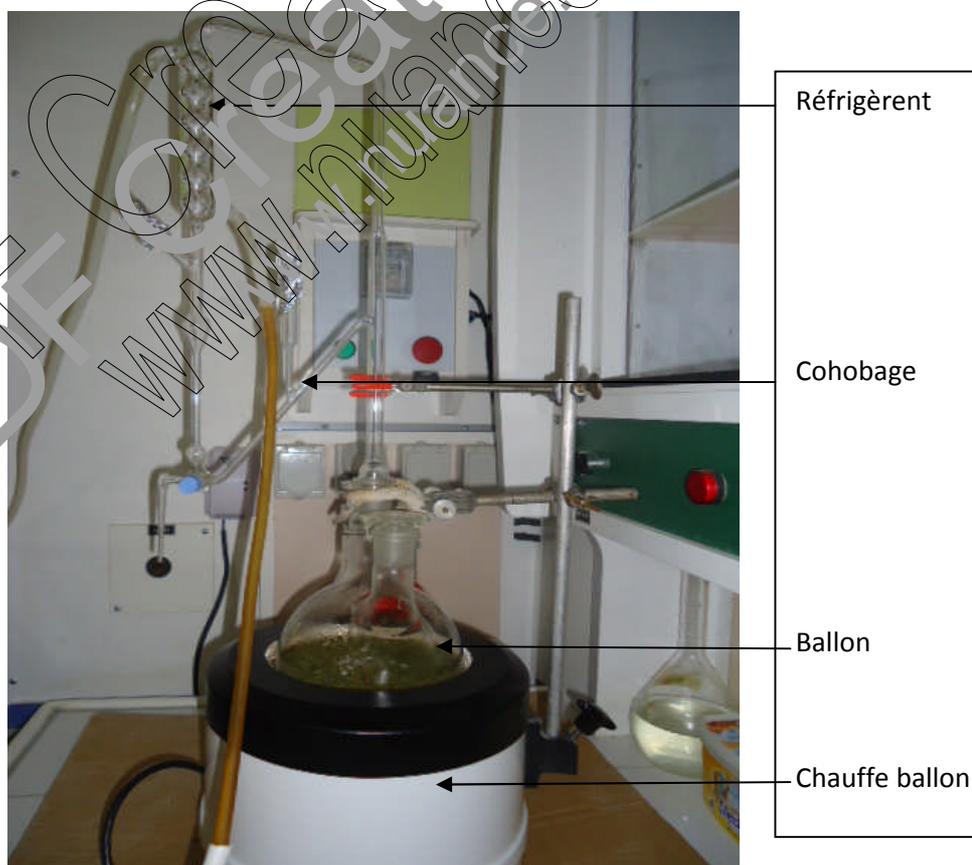
#### IV. Extraction des huiles essentielles de « *Ruta montana L.* » récoltée des deux régions étudiées

L'extraction a été effectuée au niveau de laboratoire de recherche sur les produits bioactifs et la valorisation de la biomasse «ENS» (KOUBA) par hydrodistillation (type Clevenger).

##### IV.1. Protocole expérimental d'extraction

Dans le but d'extraire les huiles essentielles de l'espèce étudiée, nous avons choisis la méthode classique d'hydrodistillation (type clevenger). C'est la méthode préconisée par la Pharmacopée Européenne.

L'hydrodistillation des parties aériennes de « *Ruta montana L.* » a été réalisée à l'aide d'un dispositif de (type Clevenger). Le montage utilisé est représenté dans la figure ci-dessous.



**Figure n°34** : Montage d'hydrodistillation (type clevenger) (Originale).

Après avoir peser 100g de matière végétale constituée des parties aériennes sont introduits dans un ballon de 2L rempli d'eau aux 2/3 de son volume. Avant le raccordement du montage, on introduit dans le ballon quelques grains de pierres de ponces à raison d'ajuster la pression et régler l'ébullition, puis un chauffage est réalisé pendant 3 heures. Après installation et fermeture du montage, le ballon sera chauffé à l'aide d'une chauffe ballon commençant dans un premier temps avec un réglage optimum du chauffage afin de stabiliser l'extraction.

Après écoulement des premières gouttes .La distillation a été effectuée avec un recyclage communément appelé cohobage.

La vapeur condensée obtenue conduit à deux phases :

- Une phase organique (huile essentielle) qui est séparée de l'eau par simple décantation. Une quantité de Sulfate de Sodium anhydre a été ajoutée au l'huile essentielle afin d'éliminer toutes traces d'eau pour la réalisation des analyses.
- Une phase aqueuse (eau aromatique ou hydrolat) qui contient une quantité non négligeable d'essence sous forme solubilisée. La récupération de cette huile est réalisée par extraction liquide-liquide avec un solvant organique (éther diéthylique).

L'utilisation d'un évaporateur rotatif permet d'éliminer l'éther et d'obtenir ainsi l'HE dissoute dans l'hydrolat. La somme des deux quantités d'huiles essentielles donne la quantité finale obtenue de cette extraction.

Pour l'extraction de l'huile essentielle en des tensioactifs on a utilisé le même procédé d'extraction, sauf qu'on a pris des quantités de 60g plus l'ajout des tensioactifs à raison de 0,6g

- **Vue sur les tensioactifs utilisés**

**Tableau n°09** : Les caractéristiques chimiques des tensioactifs utilisés.

Caractéristiques	SDS	Tween
CMC (20C° – 25C°)	7 - 10	0,012
HLB	40	15
Code du produit	L-3771	P8192
Charge ionique	Anionique	Non ionique

Point de fusion (C°)	□100	65
----------------------	------	----

L'utilisation des tensioactifs cités ci-dessus est réservée dans le domaine d'enzymologie, la préparation des vaccins, la solubilisation des protéines membranaires...etc.

## VI.2. Rendement de l'extraction

Dans notre cas ; on définit le rendement en huile essentielle par le rapport entre la masse d'huile essentielle ( ) et la matière végétale sèche ( ), il est exprimé en % et donné par la relation ci-dessous :

$$Rdt = \frac{\text{Masse d'huile essentielle}}{\text{Matière végétale sèche}} \times 100$$

Avec :

- % : Rendement en huile essentielle ;
- : Masse de l'huile essentielle (g) ;
- : Masse de la matière végétale sèche (g).

## V. Extraction des composés phénoliques

### V.1. Extraction par solvant volatils (extraction par soxhlet)

La technique utilisée pour l'extraction des composés phénoliques est celle par solvant volatil qui consiste à placé dans un extracteur un solvant volatil (méthanol) est la matière végétale à traiter. Grace à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique.

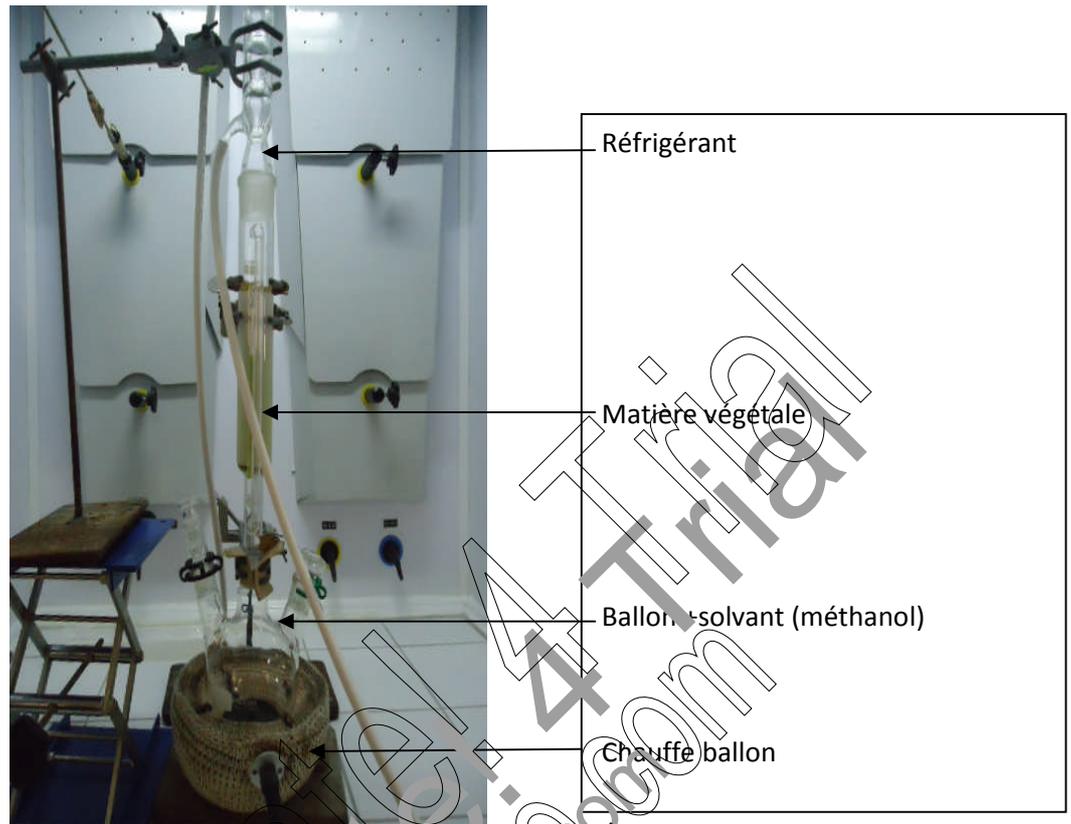


Figure n°35 : montage du soxhlet

### V.2.Mode opératoire

Les étapes d'extraction des composés phénoliques par soxhlet sont les suivantes :

- On met 400mL de méthanol plus 100mL de l'eau distillé dans un ballon de 1litre.
- De faire passer 39g de matière végétale sèche contenue dans une cartouche de cellulose.
- Le flux descendant de solution méthanolique est toujours neuf puisque distillé à chaque cycle.
- Faire passer ce distillat dans un évaporateur rotatif afin d'éliminer la solution méthanolique et obtiendrai un extrait visqueux de couleur verte glauque.



Figure n°36: Solution méthanolique l'extract. végétale.

## VI. Caractéristiques de l'huile essentielle

La caractérisation d'une essence végétale consiste à :

- Apprécier sa caractéristique organoleptique (aspect, couleur, odeur, ...).
- Qualifier et quantifier ses constituants par son profil chromatographique.

### VI.1. Caractéristiques organoleptiques

La vérification des propriétés organoleptiques des huiles essentielles est réalisée en utilisant nos sens afin d'évaluer l'aspect, la couleur, ainsi que l'odeur.

### VI.2. Analyses chromatographiques

La composition chimique des huiles essentielles extraites par hydrodistillation (type Clevenger) a été analysée qualitativement et semi-quantitativement par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/MS)

#### VI.2.1. Analyses qualitatives et semi quantitatives des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

Ces analyses ont été effectués au sein de laboratoire de biotechnologie végétale appliquée aux plantes aromatiques et médicinales (BVPAM) Université Jean Monnet de Saint-Etienne(France) selon les conditions opératoires suivantes :

**CPG** : Hewlett Packard Agilent5896N Les conditions de chromatographie sont les suivantes :

- Injection de 2  $\mu$ L en mode Splitless.

- Température de l'injection : 250°C
- Colonne capillaire HP5MS (30m x 0,25 mm x 0,25 µm)
- Programmation de température : 60°C pendant 2 min ; C°/min jusqu'à 245°C pendant 4 min
- Débit du gaz vecteur : Hélium (1ml / min)

**Spectre de masse :** model Agilent 5973

- Température : 250°C
- Impact électronique est de 70 ev.
- Scan : 350 amv/s

Pour l'identification de la composition chimique des huiles essentielles on calcule l'indice de rétention de l'huile essentielle pour la comparaison avec l'indice de rétention de la banque de donnée d'ADAMS, et l'indice de rétention calculé donné par la relation suivante :

$$IR = C*100 + 100x$$

*IR* : temps des rétentions

*TRz* : temps des rétentions d'alcane inférieur par rapport de temps de rétention de composés de l'huile essentielle.

*TRz+1* : temps des rétentions d'alcane supérieur par rapport de temps de rétention de composés de l'huile essentielle.

*C\*100* : numéraux de carbone d'alcane de temps de rétention inférieur par rapport de temps de rétention de composés de l'huile essentielle.

## VII. Dosage des composés phénoliques

### VII.1. Dosage des phénols totaux

Les phénols sont des alcools qui possèdent des propriétés particulières, ce sont des dérivés hydroxylés aromatiques dont le groupe hydroxyle -OH- est fixé directement sur le noyau aromatique. D'après le nombre de groupe -OH- ; on distingue les mono, di, les tris et les polyphénols. Les tanins appartiennent à cette dernière famille, résultant de leur polymérisation l'acide tannique est un polymère de l'acide gallique

- Le dosage des phénols totaux a été réalisé par la méthode utilisant le réactif de Folin- Ciocalteu. (Patrice, 2003).

- L'utilisation de cette méthode est largement répandue afin de caractériser la diversité des extraits végétaux.

### VII.1.1.Principe

Le réactif de Folin Ciocalteu ou réactif de phénols de Folin ou réactif de Folin-Denis, est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( ) et d'acide phosphomolybdique (  $PM$  ) En milieu basique ; ce Folin Ciocalteu fait appel à l'oxydation des phénols présents dans l'échantillon en oxydes correspondants de tungstène ( ) et de molybdène, de couleur bleue, ( ) dont l'intensité d'absorption est proportionnelle à la quantité de phénols présents dans l'échantillon. Ce dosage est très sensible mais peu spécifique car d'autres composés non aromatiques peuvent également être oxydés. La quantification des phénols totaux a été établie par apport à une courbe d'étalonnage linéaire ( $y = a \alpha + \beta$ ) réalisée avec l'acide gallique.

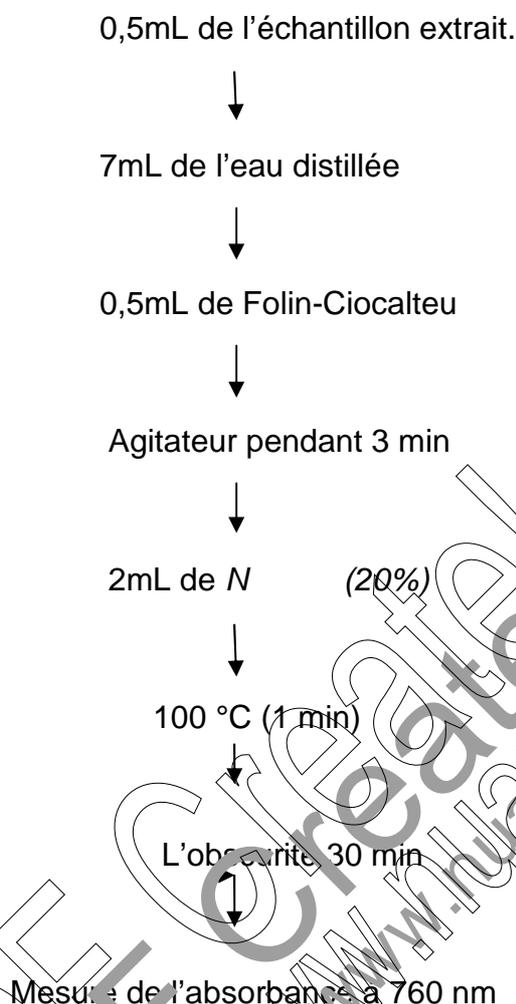
### VII.1.2.Mode opératoire

#### VII.1.2.1.Courbe d'étalonnage

À partir d'une solution mère aqueuse préparée de l'acide gallique de concentration massique 0,5mg/mL. Des solutions filles sont ainsi préparées de concentrations allant 0,003mg/mL à 0,013mg/mL. Un volume de 0,5ml de chaque solution filles est introduit dans des tubes à essais, suivi de l'addition de 7mL de l'eau distillé, 0,5mL de réactif Folin Ciocalteu (10fois dilué). 2mL de carbonate de sodium à 20% (m/v) ont été ajoutés (favoriser le milieu alcalin pour déclencher la réaction d'oxydoréduction). Par la suite ces solutions sont maintenues à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante. La lecture de l'absorbance de chaque solution est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 760 nm contre un blanc (eau distillée), ceci nous permis de tracer la courbe d'étalonnage.

#### VII.1.2.2. Dosage des phénols totaux des deux extraits à étudier

L'estimation de la quantité en phénols totaux de notre extrait végétal (solution mère à raison de 5mg/3mL d'eau distillée) est obtenue selon le protocole expérimental cité dans le schéma suivant :



**Figure n°37.** Procédure de mise en œuvre du test de dosage des phénols totaux.

## VII.2. Dosage de tanins

Les tanins sont des substances polyphénoliques responsables de la saveur astringente des aliments, leurs propriétés principales sont liées à leur aptitude à se combiner aux protéines et glycoprotéines pour les faire précipiter.

### VII.2.1. Mode opératoire

#### VII.2.1.1. Courbe d'étalonnage

À partir d'une solution mère aqueuse préparée de l'acide tannique de concentration massique 0,1mg/mL. Des solutions filles sont ainsi préparées de concentrations allant

1µg/mL à 5µg/mL. Un volume de 0,5mL de chaque solution filles est introduit dans des tubes à essais, suivi de l'addition de 7mL de l'eau distillé, 0,5mL de réactif Folin Denis. 2mL de carbonate de sodium à 20% (m/v) ont été ajoutés (favoriser le milieu

alcalin pour déclencher la réaction d'oxydoréduction). Par la suite ces solutions sont maintenues à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante. La lecture de l'absorbance de chaque solution est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 760 nm contre un blanc (eau distillée), ceci nous permis de tracer la courbe d'étalonnage.

### VIII.2.1.2. Dosage des tanins des deux extraits à étudier

L'estimation de la quantité en phénols totaux de notre extrait végétal (solution mère à raison de 5mg/3mL d'eau distillée) est obtenue en suivant le même protocole expérimental.

### VIII.2.1.3. Mode opératoire

En suivant le même protocole cité précédemment (dosage des phénols totaux) sauf qu'on utilise pour l'étalonnage l'acide tannique à la place de l'acide gallique et on mesure les différentes absorbances à 685 nm.

## VIII. Étude du pouvoir antioxydant des huiles essentielles en présence et en absence des tensioactifs ainsi que les extraits bruts

L'activité antioxydante a été évaluée par le piégeage de DPPH (2,2 – Diphényl-1-picrylhydrazyl). Le pouvoir antioxydant sera comparé par la suite avec des antioxydants de synthèse (BHT et l'acide ascorbique (Vit C)). Tous les tests ont été réalisés avec 3 répétitions pour chaque concentration.

### VIII.1. Activité de piégeage du radical DPPH (2,2 Diphényl-1-picrylhydrazyl)

#### VIII.1.1. Principe

Le DPPH est un radical libre stable qui possède une coloration violette foncée, mais lorsqu'il est réduit il devient jaune pâle à la présence des molécules responsables du pouvoir antioxydant de l'huile essentielle ou d'extrait. Cette capacité de céder des hydrogènes est mise en évidence ce par une méthode spectrométrique ensuivent la disparition de la couleur violette de la solution contenant le DPPH. Le piégeage de DPPH est suivi par la diminution de l'absorbance mesurée par un spectrophotomètre UV visible à une longueur d'onde de 517nm qui est due essentiellement à la réduction de radical (DPPH) par l'antioxydant contenu dans notre échantillon d'analyse.

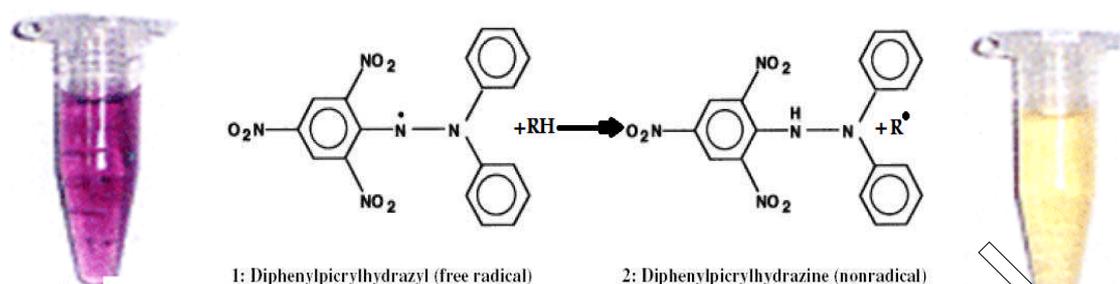


Figure n°38 : Forme libre et réduite du radical DPPH.

### VIII.1.2. Préparation de la solution de DPPH

Le DPPH (2,2 – Diphényl-1- picrylhydrazyl) est solubilisé dans du éthanol à raison de 4mg / 100mL.

### VIII.1.3. Préparation de la solution mère et dilutions des huiles essentielles et des extraits

Comme première étape, des solutions mères des huiles essentielles en présence et en absence des tensioactifs ont été préparées par dissolution dans l'éthanol à raison de 60 mg/mL.

Des solutions mères des extraits bruts ont été préparées par dissolution dans le même solvant à raison de 0,5mg/mL.

Des dilutions de nos échantillons ont été préparées en choisissant différentes concentrations. Où chacune des dilutions des huiles essentielles ou des extraits est mélangée avec la solution éthanolique de DPPH. Après une période d'incubation de 30min à la température de laboratoire et à l'abri de la lumière et l'atmosphérique, l'absorbance est lue à 517 nm.

En parallèle, des solutions mères d'antioxydants de synthèse (BHT, VitC), ont été préparées à raison de 0,2mg/mL et 0,1 mg/mL pour le BHT et VitC respectivement.

### VIII.1.4. Calcul

Le pouvoir antioxydant de l'huile essentielle ou d'extrait exprime la capacité à piéger le radical libre est évalué par le pourcentage d'activité (I %) qui est donné par la formule suivante :

$$\% \text{ DPPH} = \frac{\text{Abs } \epsilon}{\text{Abs}} \times 100$$

Où :

% DPPH : Taux du DPPH piégé ou taux d'inhibitions

Abs : absorbance du témoin (solution de DPPH) en (nm).

Abs  $\epsilon$  : absorbance de l'échantillon.

Le test de DPPH est réalisé en suivant la méthode décrite par Cuendet et *al.* (1997), Burits et Bucar, (2000) in Kaci et *al.* (2010).

**CHAPITRE 2 :**  
**RESULTATS ET DISCUSSION**

## I .Extraction et caractérisation des huiles essentielles de « *Ruta montana L.* » récoltée de deux régions différentes (Blida et Batna).

### I.1. Rendement en huile essentielle obtenus lors de l'hydrodistillation (type clevenger) de « *Ruta montana L.* » en absence des agents tensioactifs

Des essais d'hydrodistillation (type clevenger) de « *Ruta montana L.* » ont été réalisés dont le but :

1. De quantifier et comparer les rendements en huile essentielle extraite à partir de l'espèce étudiée provenant des deux régions différentes.
2. D'étudier l'influence des agents tensioactifs utilisés sur le rendement en huile essentielle de l'espèce « *Ruta montana L.* ». Ainsi de recueillir les informations sur la manière dont ils interviennent non seulement dans l'hydrodistillation des végétaux ainsi que les effets biologiques.

À cet effet, deux essais d'hydrodistillations ont été réalisés dans les conditions opératoires suivantes :

- En absence des agents tensioactifs pendant trois heures ;
- En présence des agents tensioactifs de différents types : **SDS** (sodium dodécyl sulfate de sodium), **CTAB** (hexadecyltrimethyl-ammonium bromide) et **Tween** pendant trois heures.
- Les essais d'hydrodistillation (type clevenger) de l'espèce étudiée « *Ruta montana L.* » provenant des deux régions : Batna et Blida en absence des trois tensioactifs étudiés ont fourni les rendements suivants :

**Tableau n°10** : Rendements en huile essentielle en pourcentage(%) obtenus par l'hydrodistillation de « *Ruta montana L.* » en absence des tensioactifs

Rendement En HE (%)	Region	
	Batna	Blida
Rdt de l'HE de « <i>Ruta montana L.</i> »	2,53	2,01

- L'extraction de l'huile essentielle de la partie aérienne de l'espèce « *Ruta montana L.* » donne des rendements importants pour les deux régions étudiées
- À titre de comparaison, le tableau n°10 donne des différents rendements obtenus à partir d'autres échantillons de « *Ruta montana L.* » provenant des différentes régions à l'échelle nationale :

**Tableau n° 11:** Comparaison des différents rendements en huile essentielle de l'espèce étudiée des régions différentes.

Espèce	Région	Rendements(%)	Référence
« <i>Ruta montana L.</i> »	-Mila	1(%)	Zellagui et al. (2012)
	-Oum el boughi ;	4,5(%)	Belkacem et al. (2011)
	-Batna(Fessdis) ;	2,53(%)	Notre étude
	-Bejaia(Kharata) ;	1,37(%)	Notre étude
	-Oran ;	1,63(%)	Kambouchet al. (2008)
	-Blida (Hammam melouane).	2,01(%)	Notre étude.

L'extraction des parties aériennes de la « Ruta » par l'entraînement à la vapeur d'eau a donné un rendement de 0,72(%) à 1,2(%) à partir de « *Ruta montana L.* » (Anonyme, 2000).

À titre de comparaison des rendements en huile essentielle entre « *Rutamontana L.* », et d'autre espèces voisines : pour « *Ruta graveolens* » on a permis des rendements des 0,6(%) ; 0,4(%) (Anonyme, 2000; Soleimani et al. (2009).

Pour « *Ruta chalepensis* », Dob et al. (2008) a enregistré un rendement de 0,27(%), et un rendement de 0,74(%) a été enregistré par les travaux de Madjrib et al. (2010).

Les conditions climatiques, la position géographiques de la région, les technologies agricoles des herbes, telles que le stade végétatifs (floraison, état végétatif), ainsi que l'application des différentes techniques d'extractions, l'état de la matière végétale, les conditions d'entrepôts peuvent être considérés comme facteurs influençant sur les différentes variations des rendements en huile essentielle.

## I.2.Caractéristiques physiques et organoleptiques des huiles essentielles de « *Ruta montana L.* » des deux régions étudiées :

**Tableau n°12 :** Caractéristiques physiques et organoleptiques des huiles essentielles de « *Ruta montana L.* ».

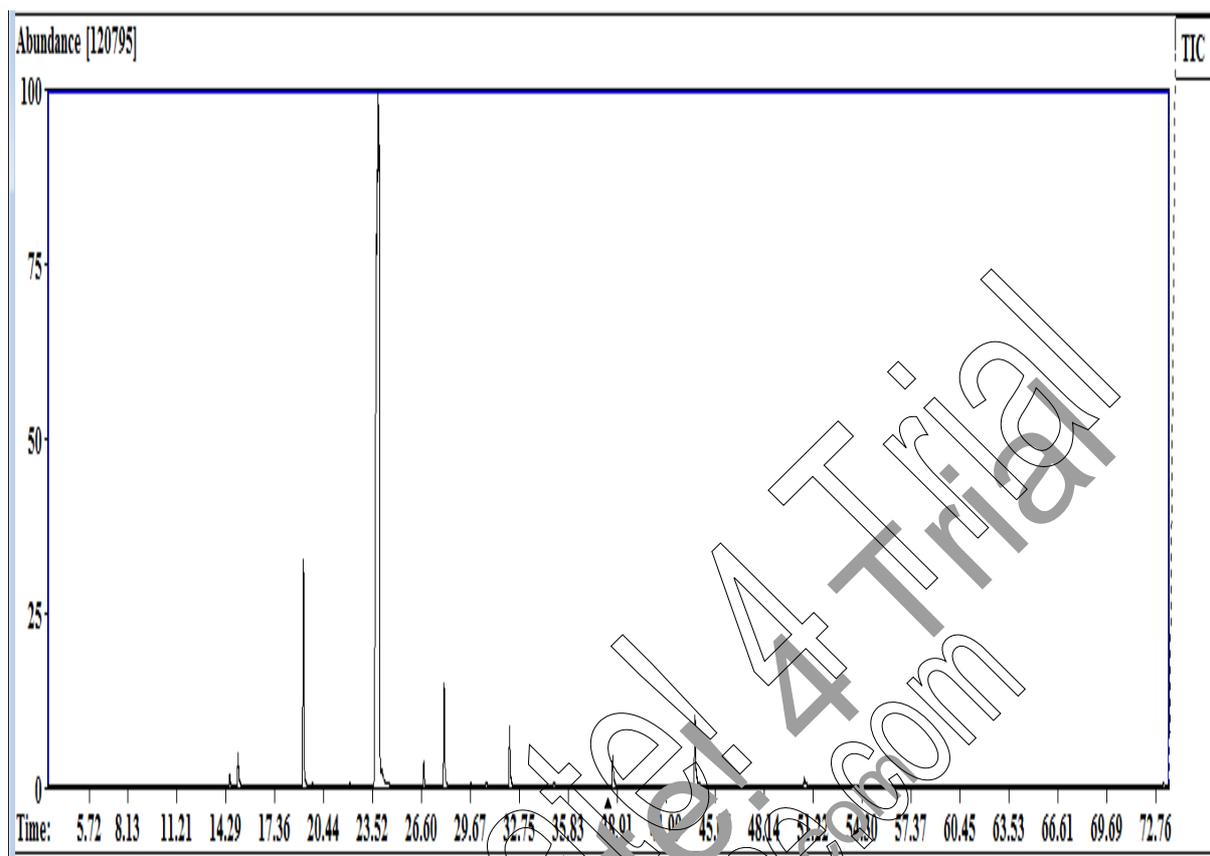
Espèce	Région	Aspect
« <i>Ruta montana L.</i> »	-Batna	-Liquide mobile ; -Couleur transparente ; -Odeur caractéristique désagréable et prononcée
	-Blida	-Liquide mobile -Couleur Jaune pâle ; -Odeur caractéristique

### I.3. Analyses chromatographiques

L'identification de la composition chimique des huiles essentielles par CG/MS a été basée sur la comparaison entre les temps de rétention des composés fournis par la banque de donnée utilisée et d'autres composés pur fournis par la littérature sur des colonnes de polarité identiques.

#### I.3.1. Analyses semi qualitatives et semi quantitatives de l'huile essentielle de la « Rue »

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse des huiles essentielles de « *Ruta montana L.* » récoltée à partir des régions différentes (Batna et Blida) extraites par une hydrodistillation (type clewenger) en absence des tensioactifs nous a permis d'identifier les composés chimiques existants dans ces huiles essentielles qui sont illustrés dans le tableau n°13 et 14.

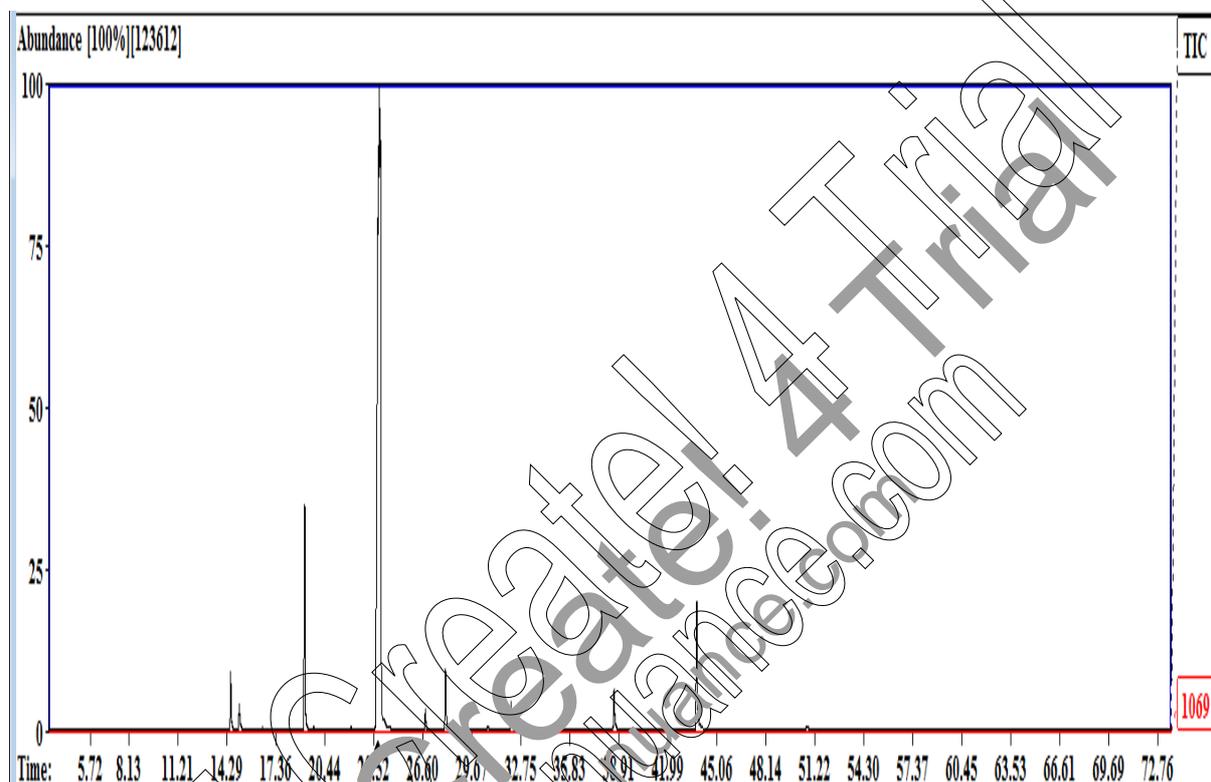


**Figure n°39 :** Chromatogramme de l'huile essentielle extraite à partir de la partie aérienne de « *Ruta montana L.* » de la région de Blida.

**Tableau n°13 :** Composition chimique de l'huile essentielle de « *Ruta montana L.* » provenant de la région de Blida :

Pi c	TR	IR calculé	IR Adams	Composé	%
1	14,55	1091,771	1087	2-Nonanone	0,41
2	15,09	1100,294	1100	Nonanal	1,19
3	19,26	1193,233	1190	2-Decanone	7,14
4	19,75	1205,522	ND	2-heptenal (Z and E)	0,17
5	22,71	1258,344	ND	tridec-12-en-2-one	0,06
6	23,08	1280,123	1288	Pregeijerene	0,06
7	23,87	1297,891	1293	2-Undécanone	78,07
8	24,12	1303,581	ND	1-Tétradécanol	1,45
9	28,04	1395,268	ND	2-Dodécanone	3,62
10	29,71	1436,093	ND	Cyclopropane, 1,2-dibutyl-	0,11
11	32,16	1496,363	1495	2-Tridécanone	2,20
12	33,56	1532,672	ND	trans, trans-Farnesal	0,09
13	38,64	1667,538	ND	Benzène, 4-pentenyl-	1,23
14	43,82	1758,460	ND	4-(1,3-benzodioxol-5-ylmethyl)-4,5-dihydrofuran-2(3H)-one	3,29

L'analyse par CG/MS de l'huile essentielle extraite à partir des parties aériennes de l'espèce étudiée par la technique d'hydrodistillation (type clevenger), nous a permis à identifier 14 composés qui représentent 89,07% de la totalité des pics.



**Figure n°40 :** Chromatogramme de l'huile essentielle extraite à partir de la partie aérienne de « *Ruta montana L.* » de la région de Batna.

La composition chimique de l'huile essentielle de « *Ruta montana L.* » de la région de Batna est présentée dans le tableau n°14

**Tableau n°14 :** Composition chimique de l'huile essentielle de « *Ruta montana L.* » provenant de la région de Batna (en absence des tensioactifs) :

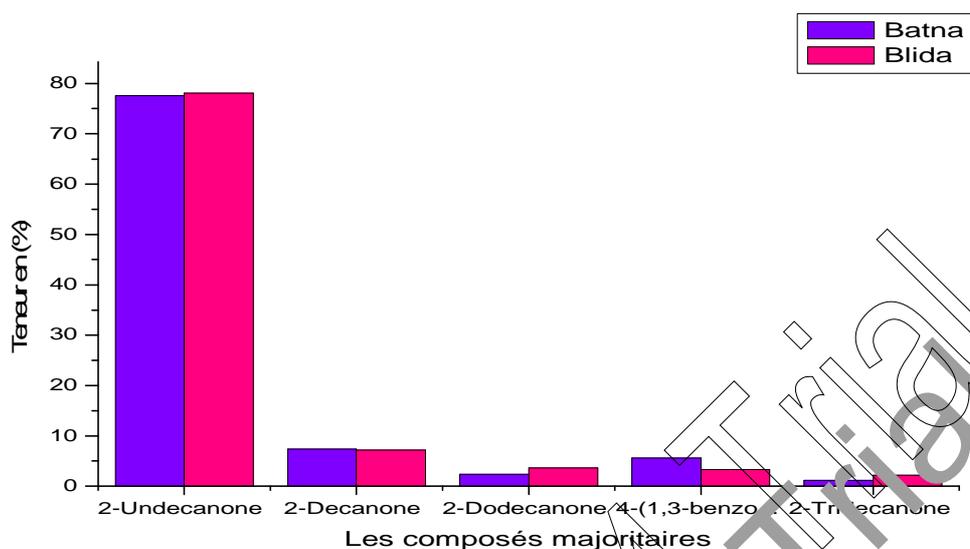
Pic	TR	IR calculé	IR Adams	Composé	%
1	14,5477	1091,08	1087	2-Nonanone	1,84
2	15,092	1103,29	ND	Nonylaldehyd	1
3	19,2059	1193,353	1198	2-Decanone	7,39
4	19,7557	1205,522	ND	2-Heptenal, (Z)-	0,18
5	23,886	1298,160	1293	2-Undecanone	77,6
6	26,7772	1365,614	1292	tridec-12-en-2-one	0,68
7	28,0464	1395	ND	2-Dodecanone	2,4
8	32,1685	1496,565	1495	2-Tridecanone	1,18
9	38,6375	1667	ND	2,5-Dimethylbenzenesulfonic acid	1,45
10	43,8319	1814,57	ND	4-(1,3-benzodioxol-5-ylmethyl)-4,5-dihydrofuran-2(3H)-one	5,60

L'analyse qualitative et semi-quantitative de l'huile essentielle extraite à partir de « *Ruta montana L.* » provenant de la région de Batna par hydrodistillation (type cleverger) nous a permis à identifier 10 composés qui représentent 88,01% de la totalité des pics.

**Tableau n°15 :** Comparaison des teneurs relatives en pourcentage des composés majoritaires des huiles essentielles de « *Ruta montana L.* » des deux régions étudiées.

Composés majoritaires	Région	
	Batna	Blida
2-Undecanone	77,6	78,076
2-Decanone	7,359	7,145
2-Dodecanone	2,409	3,623
4-(1,3-benzodioxol-5-ylmethyl)-4,5-dihydrofuran-2(3H)-one	5,603	3,292
2-Tridecanone	1,183	2,207

À titre de comparaison entre les teneurs relatives en pourcentages des composés majoritaires des huiles essentielles de « *Ruta montana.L* » des deux régions étudiées, un histogramme comparatif a été réalisé dans la figure n°41.



**Figure n°41 :** Histogramme comparatif des composés majoritaires de l'huile essentielle de « *Ruta montana L.* » des deux régions étudiées.

A la lumière des résultats, illustrés dans le tableau n°15, on note que les teneurs relatives des composés majoritaires des deux échantillons de l'huile essentielle, sont de même ordre de grandeur pour le (2-Undecanone, 2-Decanone, 2-Dodecanone, 2-Tridecanone).

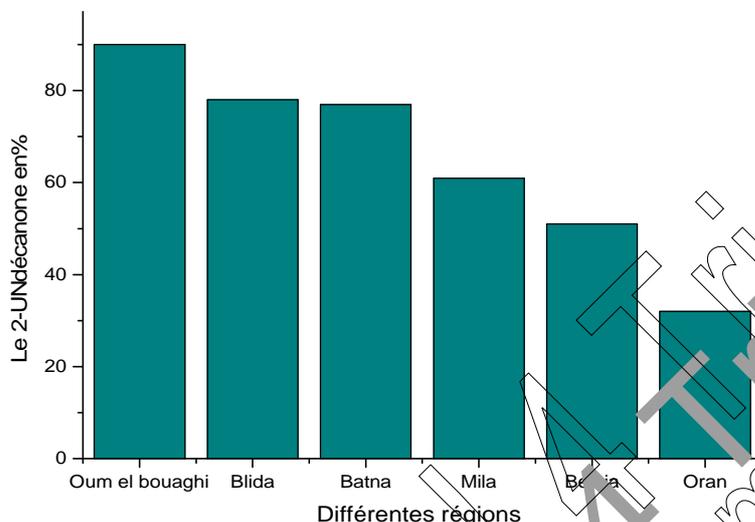
Par ailleurs, les travaux antérieurs menés sur l'identification de la composition chimique de l'huile essentielle de « *Ruta montana L.* » suggère une différence importante avec la présence immédiate de (2-Undecanone, 2-Decanone, 2-Nonanone) accompagnée par une variation en teneurs relatives.

Une comparaison des constituants majoritaires des huiles essentielles de « *Ruta montana L.* » et autres espèces voisines révèle que l'huile essentielle de la partie aérienne de « *Ruta chalepensis* » ssp *angustifolia* récolté de l'Algérie présente les composés majoritaires suivants : le 2-Undecanone (28,2%), suivi par 2-Nonanone (20%), 2-méthyl-octyl-acétate (12,7%) et 2-méthyl-décyl-acétate (5,8%) (Dob et al. (2008) in Belkacem. (2011).

**Tableau n°16 :** Comparaison des teneurs relatives en (%) de composé majoritaire des huiles essentielles de l'espèce étudiée provenant des régions différentes.

région Composé Majoritaire	région					
	Blida	Bejaia	Batna	Oran	Mila	Oum el bouaghi
2-Undecanone	78,07	51,38	77,6	32,8	61,01	90,4

La teneur en composé majoritaire varie d'une région à une autre, cela est bien illustré dans le tableau et l'histogramme



**Figure n°42 :** Histogramme comparatif des teneurs relatives en (%) de composé majoritaire des huiles essentielles de l'espèce étudiée provenant des régions différentes.

La teneur en composé majoritaire varie d'une région à une autre, cela est bien illustré dans le tableau et l'histogramme ci-dessus. Selon Teuscher et *al.* (2005), la teneur de ce composé est comprise entre 5 et 80%.

Les différentes classes chimiques des huiles essentielles de la « Rue » récoltée à partir de deux régions différentes Blida et Batna.

**Tableau n°17 :** Différentes classes chimiques présentes dans les huiles essentielles de l'espèce « *Ruta montana L.* » provenant des régions différentes

Classes chimiques	Teneur relatives %	
	Blida	Batna
Cétones	94,79	96,63
Aldéhydes	1,45	1,18
Acides	ND	1,45
Alcools	1,45	ND
Hydrocarbures	1,4	ND

D'après les résultats de tableau n°17 nous montre un histogramme comparatif des différentes classes chimiques des deux régions étudiées.

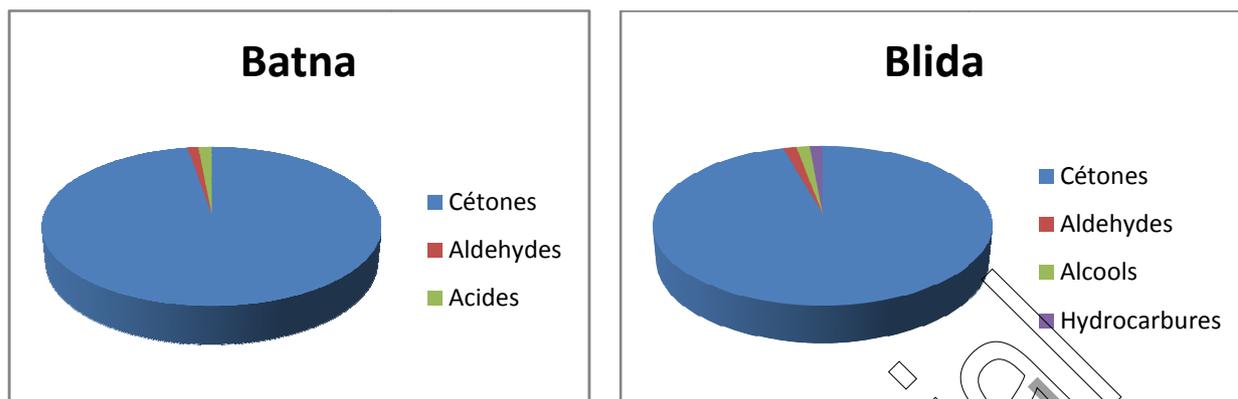


Figure n°43 : Histogrammes comparatifs des différentes classes chimiques des deux huiles essentielles étudiées.

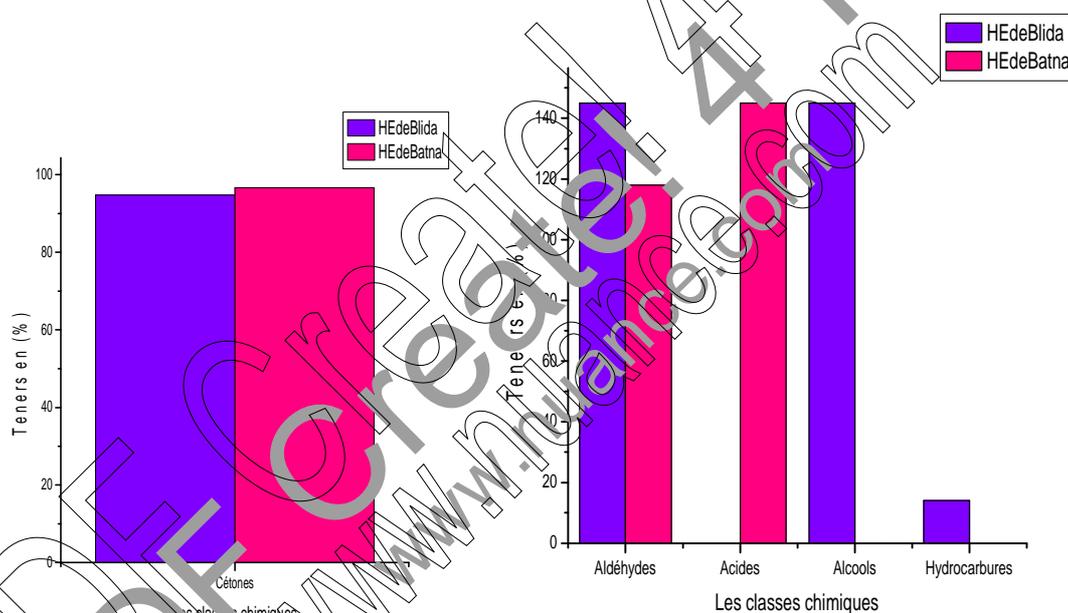


Figure n°44 : Histogramme comparatif des différentes classes chimiques des huiles essentielles de la « Rue » des deux régions étudiées.

Tableau n°18 : Comparaison des classes chimiques présentes dans les huiles essentielles de l'espèce étudiée provenant des régions différentes.

Classes chimiques	Teneur relatives %		
	Blida	Batna	Oum el bouaghi (Zellagui et al, 2012).
Cétones	94,76	95,635	95,82
Aldéhydes	1,45	1,18	ND
Acides	ND	1,45	ND
Alcools	1,45	ND	0,28
Hydrocarbures monoterpéniques	ND	ND	0,19
Hydrocarbures sesquiterpéniques	ND	ND	ND
Hydrocarbures	1,4	ND	1,22
Autres	ND	ND	1,42

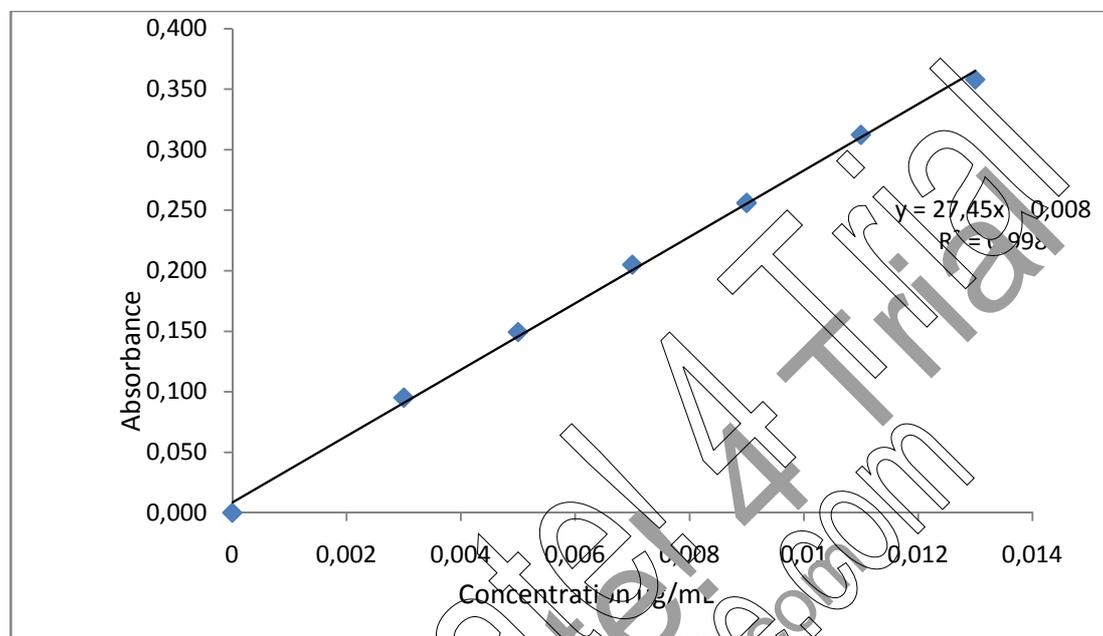
L'examen des tableaux permet de formuler les conclusions suivantes :

- La composition chimique de l'huile essentielle de « *Ruta montana L.* », présente toujours le caractère cétonique dont le 2-Undécanone reste le constituant principal à teneurs relatives différentes.
- En revanche, on observe une absence ou présence des composés chimiques où on trouve les acides avec un pourcentage de (1,45%) dans l'huile essentielle provenant de la région de Batna. Une absence totale a été remarquée dans l'huile essentielle de la région de Blida et même pour les alcools avec un pourcentage de (1,45%) dans l'huile essentielle de Blida, et absence totale dans l'huile essentielle de Batna.
- Les aldéhydes sont présents également dans les deux échantillons d'huile essentielle étudiés. Une absence des hydrocarbures dans l'huile essentielle de la « Rue » provenant de la région de Batna, avec une teneur relative de 1,4% a été enregistrée dans l'huile essentielle de la région de Blida.
- La composition chimique de l'huile essentielle de l'espèce étudiée varie d'une manière remarquable selon les régions. Les conditions agro technologiques (cycle végétatif, le type de terrain, les facteurs de l'environnement (Température, Humidité relative, ainsi que la durée totale d'insolation) , le procédé d'obtention (type d'extraction) peuvent être considérés comme facteurs de variabilité de cette composition chimique quantitativement et qualitativement ,ce qui explique l'existence de plusieurs chémotypes, définis en tant compte des teneurs relatives de ses composés majoritaires .

#### I.4. Dosage des phénols totaux

Le dosage des phénols totaux a été effectué par la méthode spectrométrique adaptée de (Singleton et Ross, 1965) avec le réactif de Folin Ciocalteu.

Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de matière végétale sèche (mg GAE /g) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique (Figure n° 45).



**Figure n°45 :** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des phénols totaux.

La teneur en phénols totaux de l'extrait de « *Ruta montana L.* » pour les deux régions étudiées est reportée dans le tableau ci-dessous :

**Tableau n°19 :** La teneur en phénols totaux de l'extrait de « *Ruta montana L.* » provenant des deux régions étudiées.

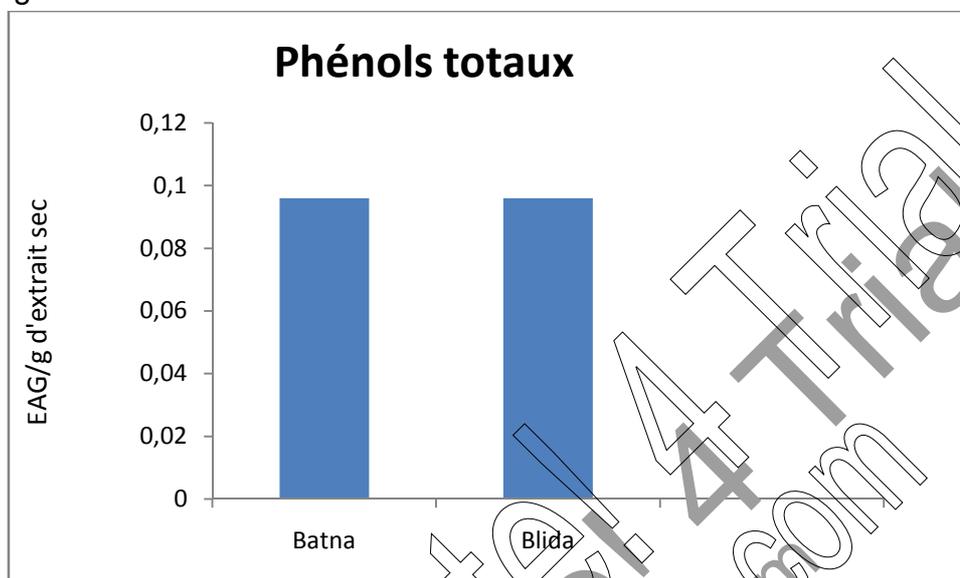
Espèce	Région	Teneur en phénols totaux (mg EAG /g d'extrait sec)
« <i>Ruta montana L.</i> »	Batna	0,09
	Blida	0,09

Pour les deux régions étudiées, nous avons remarqué une similarité des teneurs en phénols totaux (la figure n°46). Qui sont de l'ordre 0,09mgEAG/g d'extrait sec pour l'espèce provenant de deux régions Blida et Batna.

Une étude a été faite par Djeridane et *al.* (2005), montre que la teneur en phénols totaux des extraits de l'espèce « *Ruta montana L.* » récoltée à partir de l'Aghout (région de steppe en Algérie) est de l'ordre 3,13 mg EAG /g d'extrait sec, cette teneur est supérieure à celle qu'on a trouvé dans l'espèce étudiée provenant de Batna et Blida avec des teneurs de (0,09 mg EAG /g d'extrait sec). Cette teneur

importante en phénols totaux peut être est due à la différence entre les conditions climatiques comme l'étage bioclimatique de la région, la sécheresse, et la pluviométrie.

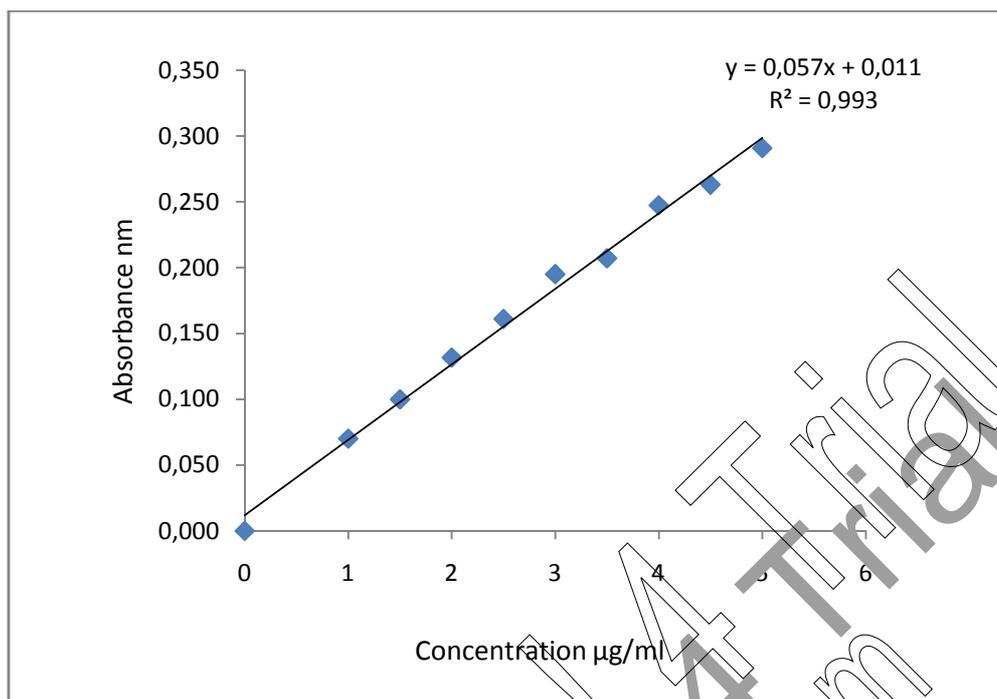
L'histogramme suivant représente la différence des teneurs en phénol totaux des deux régions étudiées.



**Figure n°46 :** Histogramme comparatif des teneurs en phénols totaux des extraits de « *Ruta montana L.* » des deux régions étudiées.

### I.5. Dosage des tanins :

La quantification des tanins a été effectuée par une méthode adaptée par (Patrice et al. (2003) en utilisant le Folin-Denis. Une courbe d'étalonnage est réalisée en utilisant l'acide tannique. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide tannique par gramme de la matière végétale sèche (figure n°47).



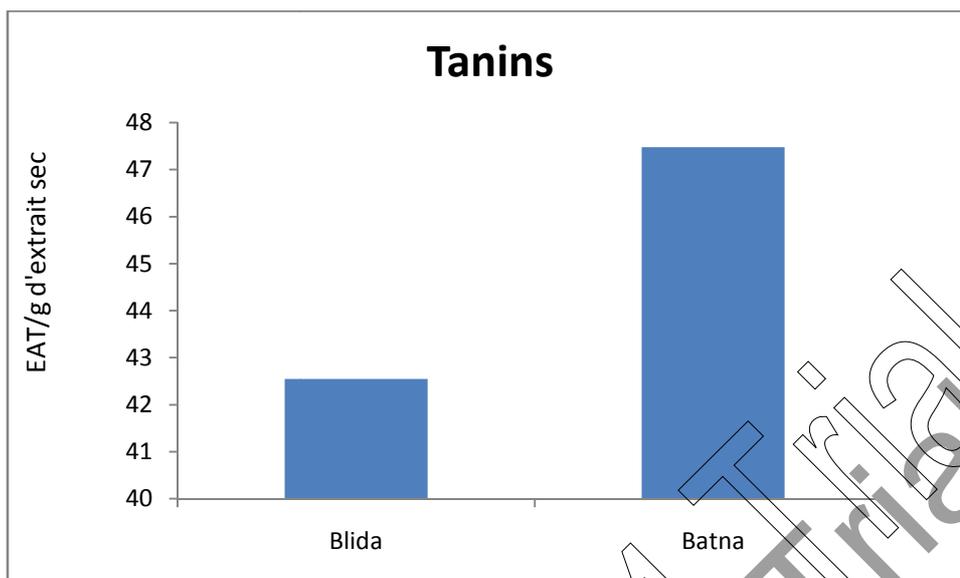
**Figure n°47 :** Courbe d'étalonnage d'acide tanique pour le dosage des tanins.

Les teneurs en tanins des extraits méthanoliques de « *Ruta montana L.* » des deux régions Batna et Blida sont illustrés dans le tableau n° 20

**Tableau n°20 :** les teneurs en tanins de l'extrait de l'espèce étudiée provenant des deux régions de Batna et de Blida :

Espèce	Région	Teneur en tanins (mg EGT/g d'extrait)
« <i>Ruta montana L.</i> »	Blida	42,55
	Batna	47,48

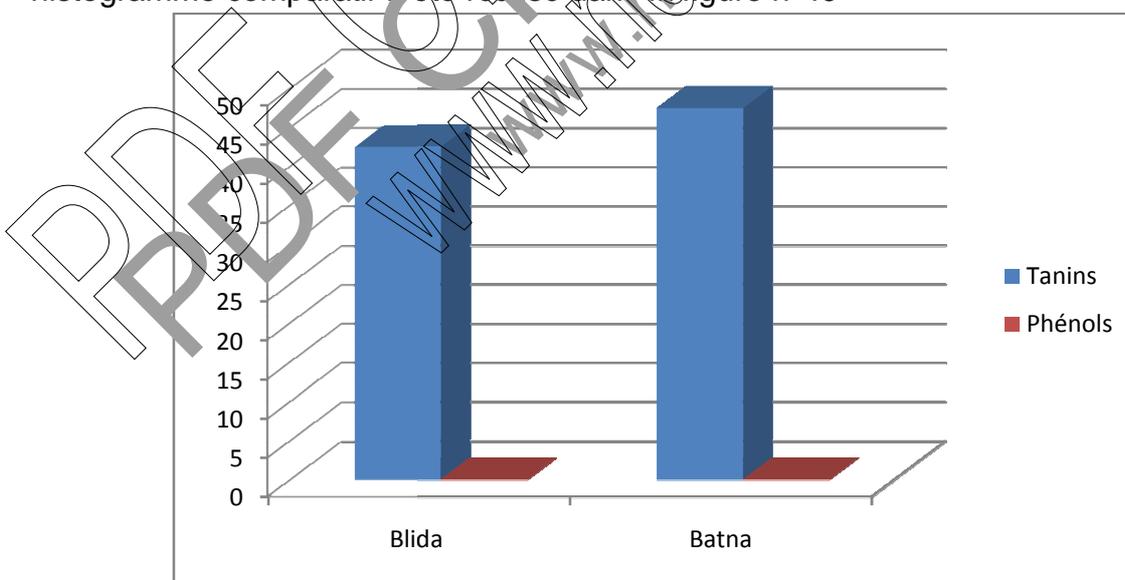
La figure suivante nous montre la différence des teneurs en tanins (mg EGT/g d'extrait) entre les deux régions étudiées.



**Figure n°48 :** Histogramme montre la teneur en tanins de l'extrait de « *Ruta montana L.* » des deux régions.

Comme le montre l'histogramme ci-dessus, les concentrations en tanins sont classées comme suit : Blida < Batna, qui sont de l'ordre de 42,55 ; 47,48 mg EAT/g d'extrait sec respectivement, dont nous avons remarqué que la teneur en tanins enregistrée dans la plante étudiée de la région de Batna est la plus importante.

À titre de comparaison entre les deux substances polyphénoliques étudiées, un histogramme comparatif a été réalisé dans la figure n°49



**Figure n°49 :** Histogramme comparatif entre les phénols totaux et tanins.

Les résultats de l'évaluation des teneurs en phénols totaux et tanins des extraits méthanoliques de l'espèce étudiée des deux régions Batna et Blida sont signalés les points suivants :

- Une teneur similaire en phénols totaux (0,09mgEAG/g d'extrait sec, pour les deux régions étudiées Batna et Blida.
- Une quantité en tanins très importante pour les deux régions étudiées 47,48mgEAT/g d'extrait sec pour la « Rue » provenant de Batna et de teneur 42,55mgEAT/g d'extrait sec de la « Rue » provenant de Blida.
- Puisque l'extrait méthanolique de l'espèce « *Ruta montana L.* » provenant de la région de Batna présente un teneur élevée en tanins, ce dernier doit présenter la plus importante activité antioxydante.

#### I.6.L'évolution du pouvoir antioxydant : piégeage du radical libre de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

- Le radical DPPH est l'un des substrats les plus utilisés généralement pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicalaire et la simplicité de l'analyse Bozin *et al.* (2008) in kanoune (2011).
- L'activité antioxydante est déterminée par la diminution de l'absorbance d'une solution alcoolique de DPPH à 517nm, qui est due sa réduction à une forme non radicalaire DPPH-H par les antioxydants (AH), donneurs d'hydrogènes présents dans l'extrait végétal ou par une autre espèce radicalaire comme le montre les équations suivantes : Masuthisakul *et al.*(2007) ,Dasilva Pinto *et al.* (2008) in kanoune (2011).



Dans notre étude nous avons évalué le pouvoir antioxydant des différents extraits (huiles essentielles sans et en présence de tensioactifs et extraits méthanoliques) de la plante provenant des deux régions étudiées afin de préjuger le pouvoir antiradicalaire. A cette effet trois antioxydants de synthèses (BHT : Butyl hydroxy toluène, BHA : Buutyl hydroxyanisol, et Acide ascorbique sont pris comme références.

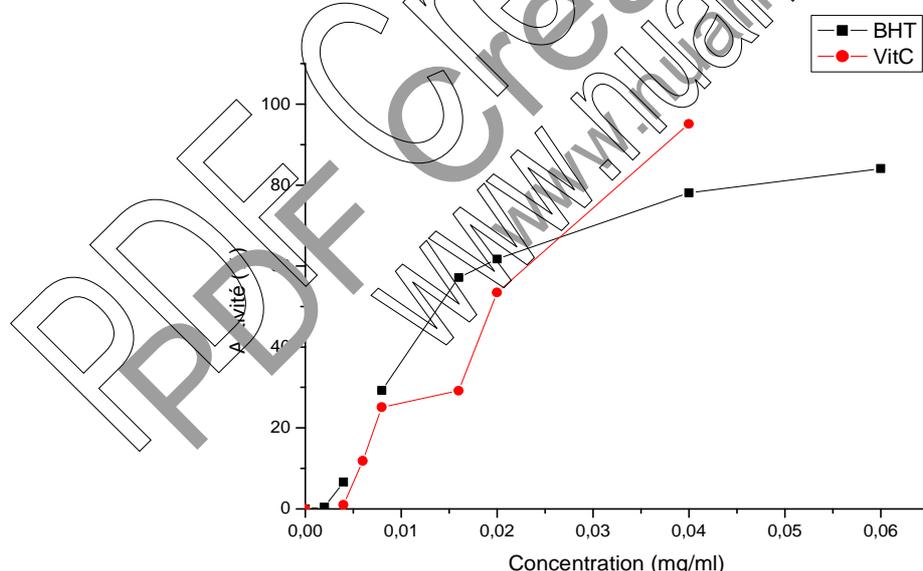
Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes ayant une allure exponentielle. A partir de ces courbes, nous pouvons déterminer les pourcentages d'inhibition obtenus en fonction des concentrations utilisées, ainsi la valeur d'

## I.6.1. Pouvoir antioxydant des trois antioxydants standards utilisés (BHT, VitC)

Tableau n°22 : Pouvoir antioxydant des deux antioxydants standards utilisés (BHT, VitC)

Concentration (mg/mL)	Activité de piégeage du radical DPPH (I %)	
	BHT	Vit C
0	0	0
0,002	0,42	ND
0,004	6,60	ND
0,006	ND	11,37
0,008	29,25	25,13
0,01	57,17	29,19
0,02	61,72	57,11
0,04	78,07	95,09
0,06	84,10	ND

D'après les résultats pu établir un graphe qui nous montre l'évolution du pouvoir antioxydant des deux antioxydant standard (vitC et BHT).



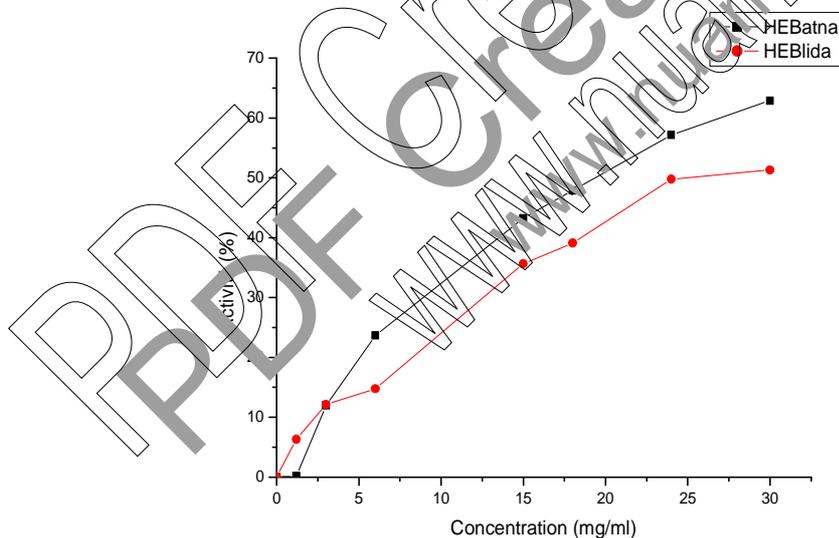
**Figure n°55 :** Activité de piégeage du radical DPPH des antioxydants de synthèses (BHT, Vit C) en fonction des concentrations.

D'après le tableau n°22 et la figure n°55, on remarque que l'acide ascorbique présente une forte action radicalaire par rapport aux autres antioxydants standards. Cela est bien illustré dans le graphe ci-dessus.

### I.6.2. Activité de piégeage du radical DPPH des huiles essentielles en absence des tensioactifs

**Tableau n°23 :** Le pouvoir de piégeage du radical DPPH de l'huile essentielle de « *Ruta montana L.* » provenant des deux régions étudiées :

Concentration en HE de (mg/mL)	I(%)	
	Blida	Batna
0	0	0
1,2	6,342	0,493
3	12,120	11,979
6	14,777	23,705
16	35,655	41,255
18	39,141	47,887
24	49,785	57,162
30	51,284	62,887



**Figure n°51 :** la capacité radicalaire de l'huile essentielle de « *Ruta montana L.* » des deux régions étudiées

D'après le tableau et la figure ci-dessus, il apparaît clairement que l'huile essentielle de « *Ruta montana L.* » provenant de la région de Batna présente une capacité de réduction du radical DPPH différente à celle présentée dans l'huile essentielle de « *Ruta montana L.* » provenant de la région de Blida à des concentrations de (6mg/mL, 16mg/mL, 18mg/mL, 24mg/mL, 30mg/mL). Ainsi que pour les

concentration de (3mg/mL) on note que la capacité radicalaire de DPPH de l'huile essentielle de « *Ruta montana L.* » de Batna est similaire à celle de l'huile essentielle de « *Ruta* » provenant de la région de Blida.

En revanche, on note pour la plus faible concentration de l'huile essentielle (1,2%), cette dernière présente une activité radicalaire plus importante (6,32%) pour la région de Blida par rapport à celle qui a été constatée pour l'échantillon provenant de la région de Batna (0,19 %).

Ces résultats semblent d'être due a la composition chimique de l'huile essentielle de « *Ruta montana L.* » provenant des deux régions étudiées.

Par ailleurs, on remarque que pour des concentrations élevées (18, 24, 30 mg/mL), l'huile essentielle de la « *Rue* » présente un pouvoir de piégeage de radical de DPPH plus inférieur à celui du BHT a des faibles concentrations (0,01,0,02,0,04, 0,06mg/mL).

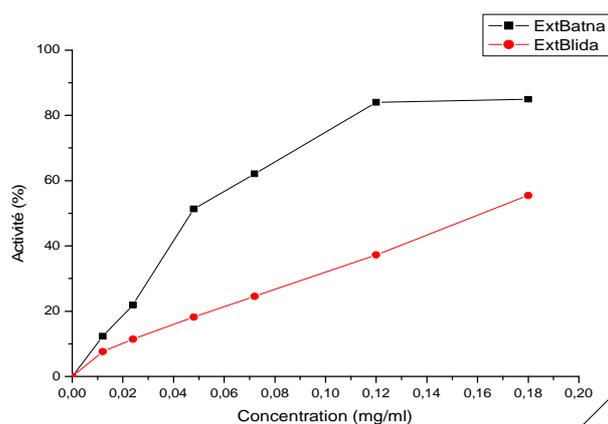
Malgré une concentration maximale de 30mg/mL, l'huile essentielle de « *Ruta montana L.* » présente une capacité radicalaire plus inférieure à celle représentée par le BHT à une faible concentration de 0,06mg/mL.

### I.6.3. Activité de piégeage du radical DPPH de l'extrait de « *Ruta montana L.* » des deux régions étudiées

La capacité radicalaire d'extrait de la « *Rue* » est représentée dans le tableau n°24

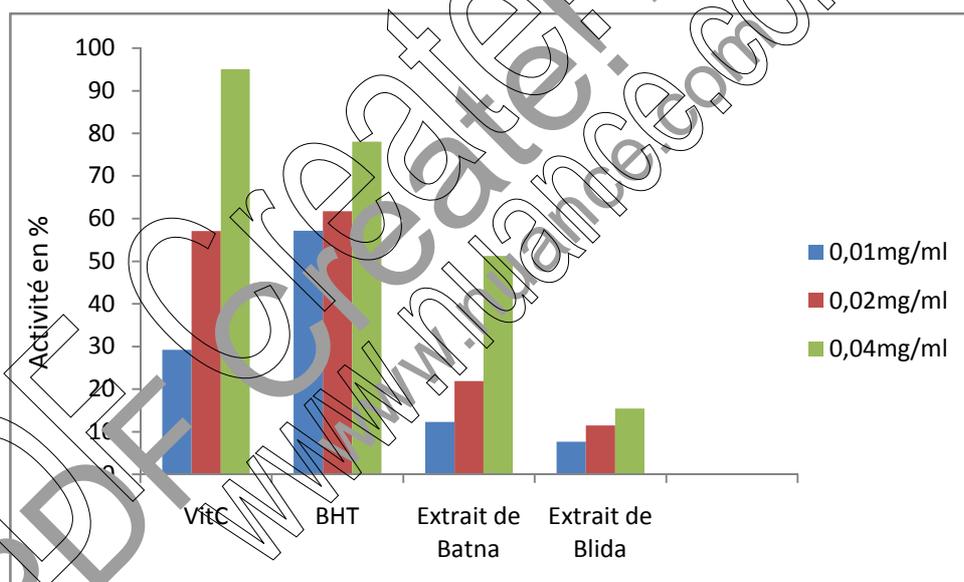
**Tableau n°24 :** Le pouvoir de piégeage du radical DPPH d'extrait de « *Ruta montana L.* » provenant des deux régions étudiées :

Concentration en extrait (mg/mL)	I(%)	
	Blida	Batna
0		0
0,012	7,644	12,299
0,024	11,437	21,897
0,048	15,460	51,270
0,072	24,540	62,069
0,096	40,690	80,690
0,12	37,241	83,925
0,18	55,460	84,885



**Figure n°52 :** la capacité radicalaire de l'extrait de « *Ruta montana L.* » des deux régions étudiées.

D'après les résultats nous montre un histogramme comparatif des capacités radicalaires des antioxydants de synthèses et les extraits des deux région étudiées.



**Figure n°53 :** Histogramme comparatif des capacités radicalaires des antioxydants de synthèses et les extraits de différentes régions étudiées.

À la lumière des résultats, nous constatons les remarques suivantes :

- ❖ L'extrait de la « Rue » de la région de Batna manifeste une activité de piégeage du radicale DPPH nettement plus supérieure à celle de l'extrait de la région de Blida quelque soit la concentration utilisée.
- ❖ En revanche, pour des concentrations de (0,01, 0,02, 0,04mg /mL), les extraits des deux régions étudiées présentent une activité antioxydante assez faible par rapport à celle obtenue par le BHT et l'acide ascorbique.

- ❖ Pour les deux régions étudiées, on remarque que l'extrait de chaque région présente un pouvoir de piégeage du radical DPPH d'autant plus important par rapport à celui attribué pour les huiles essentielles, cela est du probablement à la présence des composés phénoliques.
- ❖ On constate aussi que pour une faible concentration d'extrait (0,18mg/mL), ce dernier présente une action radicalaire plus élevée (55,46%, 84,88%) pour l'espèce de la région de Blida et Batna respectivement par rapport à celle présentée par les huiles essentielles des deux régions étudiées à une concentration élevée (30mg/mL) (51,28%, 62,88%) pour Blida et Batna respectivement. cela est du probablement aux facteurs suivants :
  - Absence ou présence des phénols dans les huiles essentielles.
  - La teneur élevée des principes actifs (phénols totaux et tanins)

#### I.6.4. Estimation de

La capacité antioxydante des différents extraits a été déterminée à partir des , définie par la concentration nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Plus la valeur d' est petite, plus l'activité de l'extrait testé est grande (Pokony et al. (2001) in Kanoune. (2011).

**Tableau n° 25:** Les des différents antioxydants étudiés.

Composé	mg/mL
Vit C	0,017
BHA	0,11
BHT	0,013
L'HE de « Rue » : Blida	24,78
L'HE de « Rue » : Batna	19,64
Extrait de Blida	0,16
Extrait de Batna	0,049

Tenant compte que la valeur de la plus faible correspond à la plus forte activité antioxydante, donc on constate que l'acide ascorbique de la « Rue » qui présentent le pouvoir du piégeage du radical DPPH le plus important cela est bien illustré dans la figure n°54.

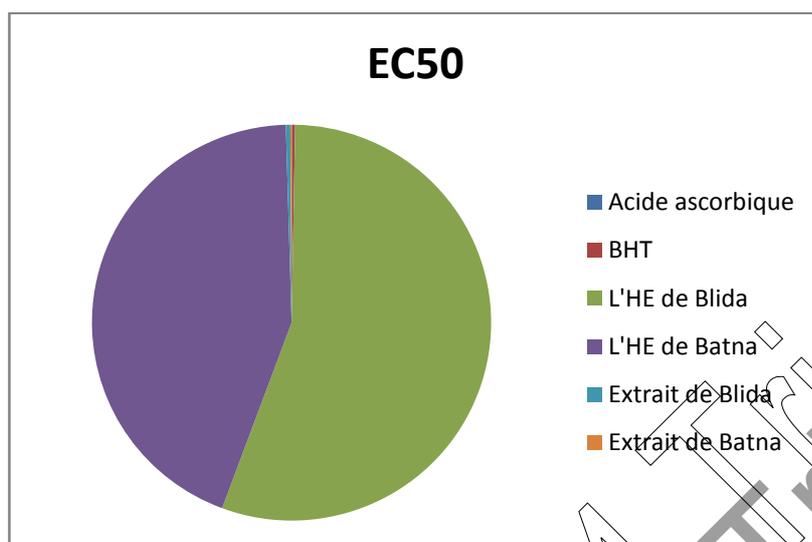


Figure n°54 : Histogramme des

## II. Extraction des huiles essentielles de « *Ruta montana L.* » récoltée de la région de Batna en présence des tensioactifs :

### II.1. Rendement en huile esser de le de « *Ruta montana L.* » de la région de Batna par hydrodistillation (type clevenger) en présence des tensioactifs

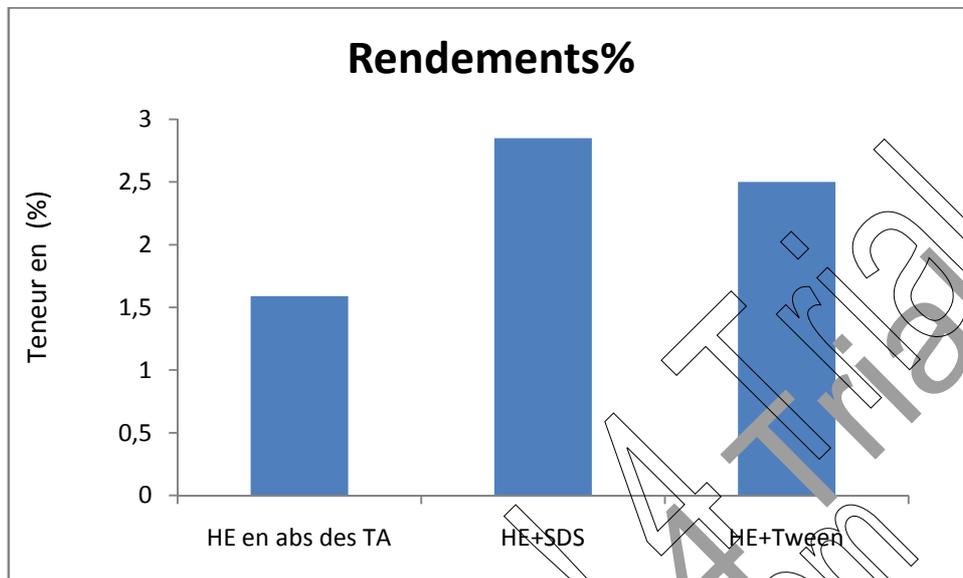
- Lors de la deuxième série d'essais, l'hydrodistillation de (type clevenger) de la plante a été réalisée en présence des deux tensioactifs différents : **SDS**, et **Tween**.

Le rendement en huile essentielle obtenus par l'hydrodistillation de la plante en présence des tensioactifs étudiés ont réunis dans le tableau ci-dessous :

**Tableau n°26 :** Rendement en huile essentielle de « *Ruta montana L.* », en pourcentage (%) provenant de la région de Batna en présence et en absence des tensioactifs.

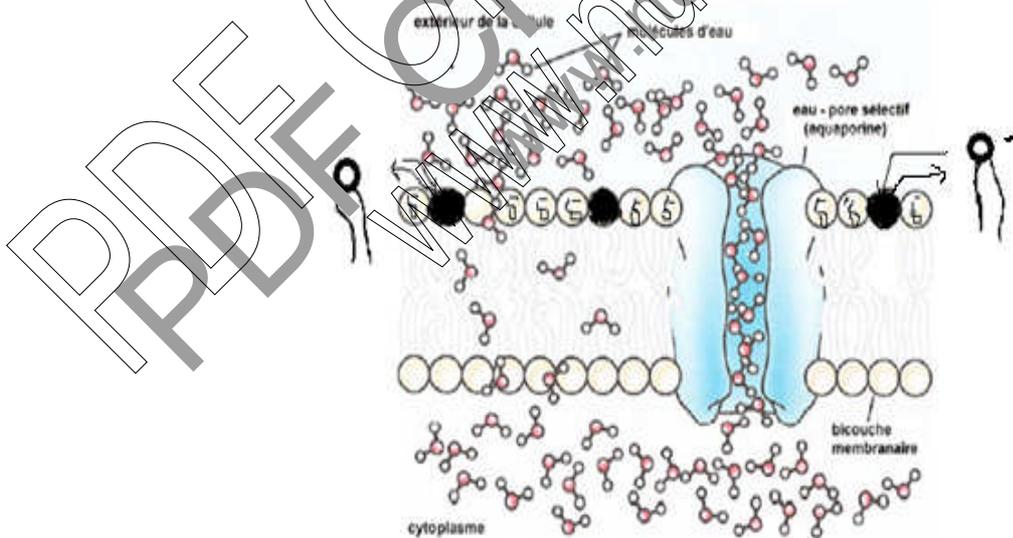
	En présence des tensioactifs		En absence des tensioactifs
	SDS	Tween	
Rdt en (%) de l'HE de « <i>Ruta montana L.</i> »	2,85	2,5	1,59

Les différents rendements de l'huile essentielle de « *Ruta montana.L* » en présence et en absence des tensioactifs sont illustrés dans la figure n°55.



**Figure n°55 :** Histogramme des différents rendements en huile essentielle de « *Ruta montana L.* » en présence et en absence des tensioactifs.

D'après les résultats nous montre un schéma de mécanisme d'intervention dans l'extraction des huiles essentielles.



**Figure n°56 :** schéma de mécanisme d'intervention des tensioactifs dans l'extraction des huiles essentielles.

D'après les résultats qu'on a enregistré pour l'extraction par hydrodistillation en présence des tensioactifs a fourni un rendement en huile essentielle supérieur a celui de l'extraction sans tensioactifs .Cette augmentation du rendement pourrait être due au fait que la solution aqueuse de tensioactif s'achemine plus facilement à travers la cuticule de la plante en solubilisant les cires épicuticulaires libérant des composés entraînés à la vapeur d'eau .L'étude

La solubilisation des parois cellulaires par les tensioactifs permettrait à l'huile essentielle localisée dans les sites producteurs (poches schizolysigènes) d'atteindre la surface du solide pour y être entraîné par la vapeur, cela est confirmé par les résultats illustrés dans le tableau n°

Par ailleurs la quantification en huiles essentielles extraite à partir de « *Ruta montana L.* » en présence des deux tensioactifs révèle une différence de rendements à raison de 2,85% en présence de SDS, et de 2,5% en présence de Tween. Ces résultats peuvent être expliqués, au fait que le SDS (tensioactif anionique) une fois il est arrivé aux parois cellulaires, il y avait une répulsion avec les phospholipides constitutifs de cette dernière, donc il va pénétrer et sortir rapidement et qui va laisser un vide entre les couches lipidiques qui facilite la pénétration de l'eau. Mais par rapport au Tween qui contient une longue chaîne

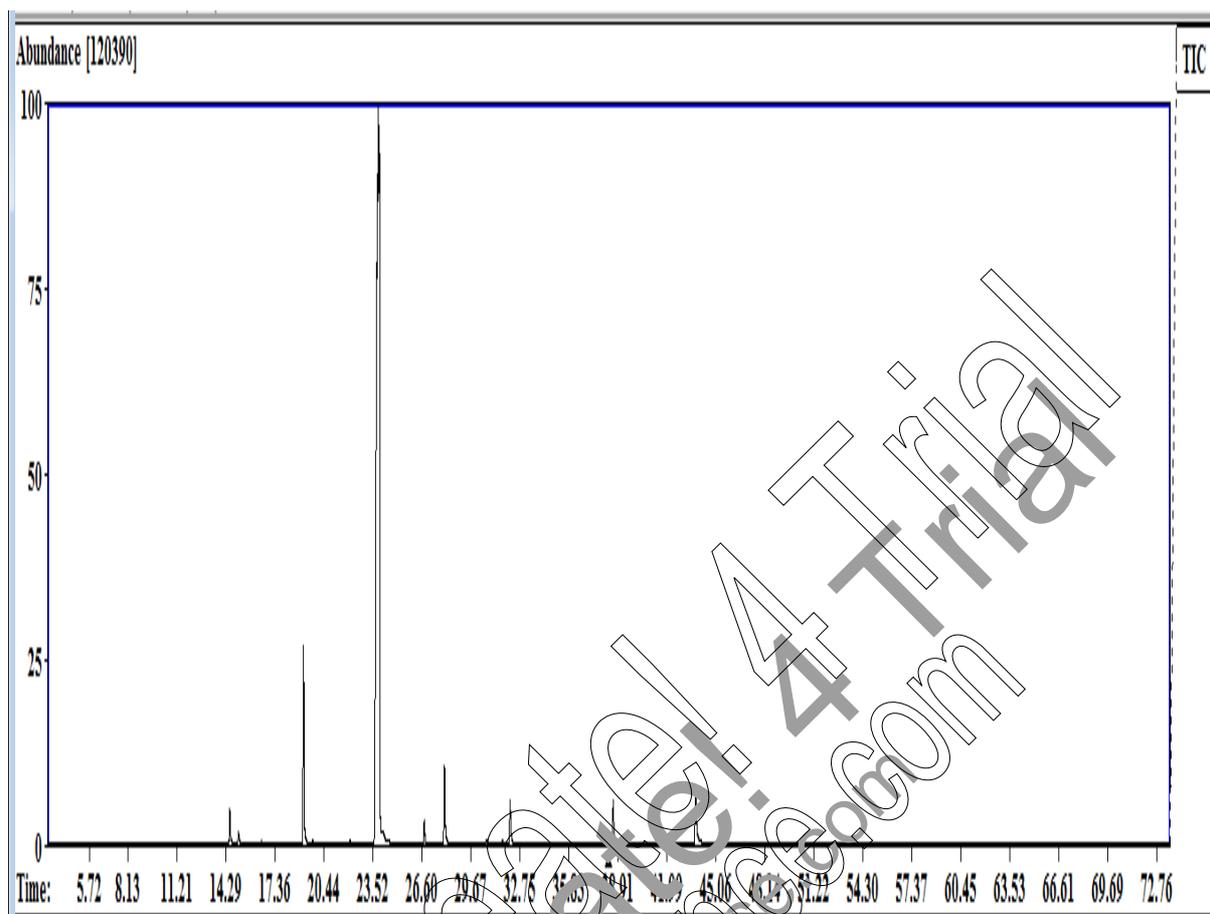
À des fins comparatives avec des études déjà réalisées sur l'extraction des huiles essentielles de « *Ruta montana L.* » en présence des agents tensioactifs, on n'a pas pu trouver des références.

## I.2. Analyses chromatographiques

L'identification de la composition chimique des huiles essentielles par CG/MS a été basée sur la comparaison entre les indices de rétention des composés fournis par la banque de données utilisée et d'autres composés purs fournis par la littérature sur des colonnes de polarité identiques.

### I.2.1. Analyses semi qualitatives et semi quantitatives de l'huile essentielle de la « *Ruta* » de la région de Batna en présence des tensioactifs

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse des huiles essentielles de « *Ruta montana L.* » récoltée à partir de la région de Batna extraites par une hydrodistillation (type Clevenger) en présence de SDS et CTAB, nous a permis d'identifier les composés chimiques existants dans ces huiles et qui sont illustrés dans le tableau n°27 et 28.

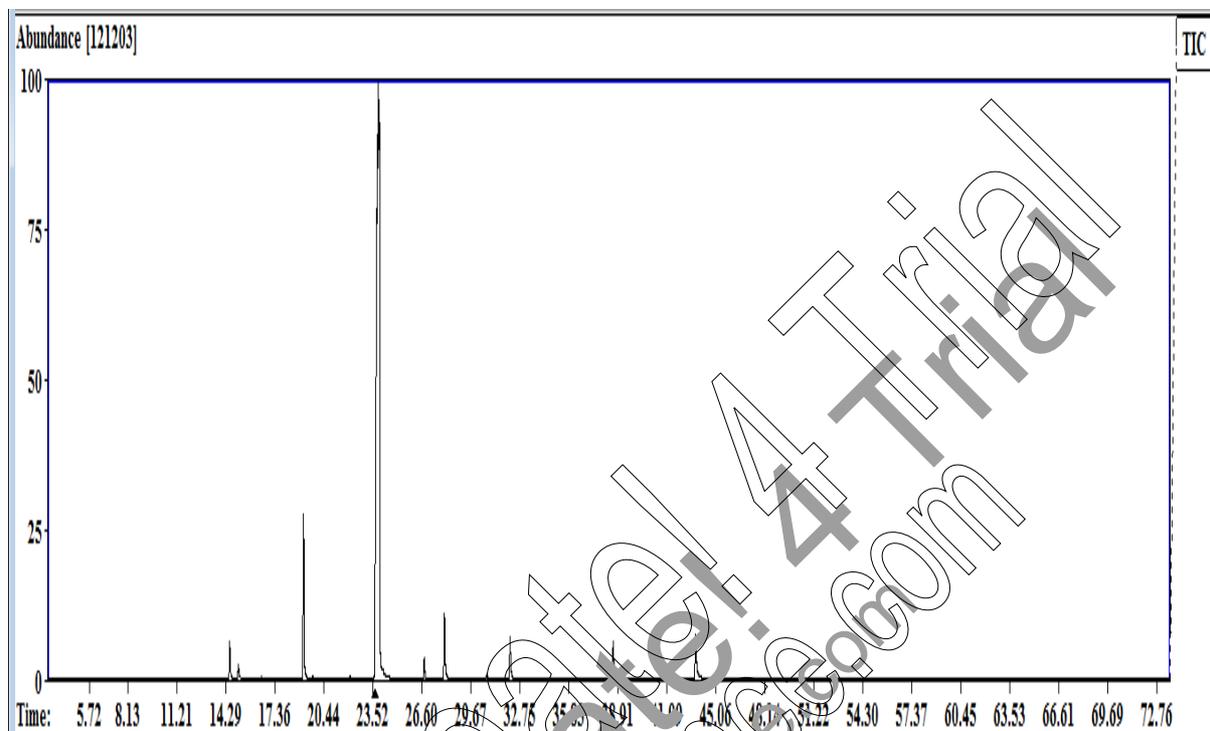


**Figure n°57 :** Chromatogramme de l'huile essentielle extraite à partir de la partie aérienne de « *Ruta montana L.* » de la région de Batna en présence de tensioactifs anionique (SDS).

**Tableau n°27 :** Composition chimique de l'huile essentielle de l'espèce étudiée en présence de SDS

Pic	TR	IR Calculé	IR Adams	Composé	%
1	11,55	1091,212	1087	2-Nonanone	1,24
3	15,10	1103,537	ND	Nonyl aldehyd	0,49
5	19,19	1193,117	1198	2-Decanone	6,35
6	19,76	1205,647	ND	trans-3-Decene	0,15
7	23,08	1280,188	1288	Pregeijerene	0,07
8	23,87	1297,981	1293	2-Undecanone	80,33
9	24,14	1304,160	ND	1-Undecene	1,27
10	28,04	1395,271	ND	2-Dodecanone	3,02
11	31,6	1484,517	1361	10-Undecyn-1-ol	0,14
12	32,16	1496,570	1495	2-Tridecanone	1,78
14	38,64	1667,617	ND	Benzene, 4-pentenyl-	1,81

L'analyse chromatographique par CG/MS de l'huile essentielle extraite à partir de l'espèce étudiée provenant de la région de Batna en présence de SDS nous a permis à Identifier 14 composés qui représentent 89,94% de la totalité des pics.



**Figure n°58** : Chromatogramme de l'huile essentielle extraite à partir de la partie aérienne de « *Ruta montana L.* » de la région de Batna en présence de tensioactif cationique (CTAB).

**Tableau n°28** : Composition chimique de l'huile essentielle de l'espèce étudiée en présence de CTAB

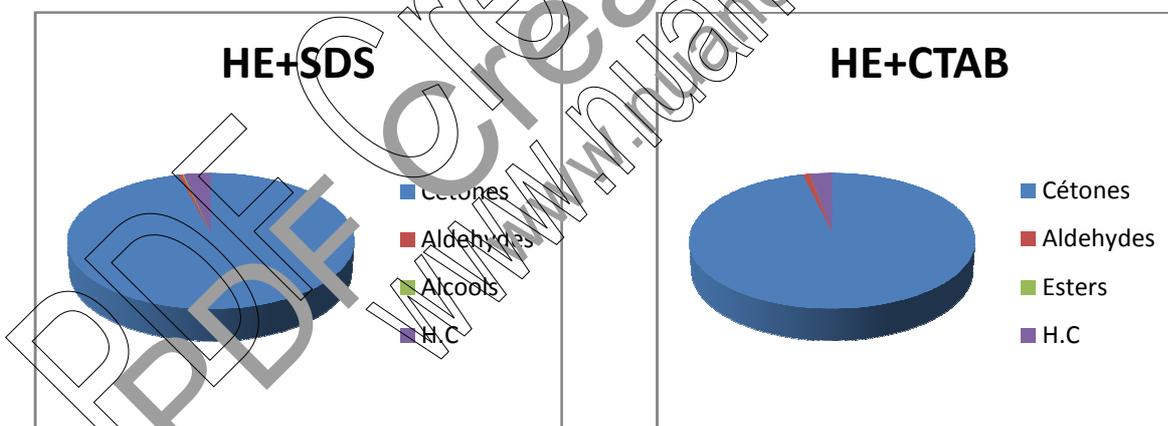
Pic	IR Calculé	IR dans la littérature	Composé	%
1	901,94	913	Pentanoic acid, 4-methyl-, methyl ester	0,03
2	1302,054	1087	2-Nonanone	1,49
3	1100,073	ND	Nonylaldehyde	0,69
4	1105,426	1198	2-Decanone	6,42
5	1200,016	1293	2-Undecanone	80,12
6	1200,093	ND	2-Heptenal, (Z)-	0,17
7	1280,121	1288	Pregeijerene	0,07
8	1300,177	ND	2-Dodecanone	2,85
9	1302,854	ND	Nedox 1200	0,86
10	1400,077	ND	2-Tridecanone	1,91
11	1602,849	ND	Benzene, (3-methyl-4-pentenyl	1,85
12	1700,102	ND	4-(1,3-benzodioxol-5-ylmethyl)-4,5-dihydrofuran-2(3H)-one	2,84

L'identification de la composition chimique de l'huile essentielle de « *Ruta montana L.* » de la région de Batna en présence de CTAB montre une diversité en composés où on a pu déterminer 12 composés qui représentent 88,13% de la totalité des pics.

**Tableau n°29 :** Différentes classes chimiques présentes dans les huiles essentielles de « *Ruta montana L.* » de la région de Batna en présence des deux tensioactifs étudiés.

Classes chimiques	Teneur relatives %	
	SDS	CTAB
Cétones	92,72	95,63
Aldéhydes	0,49	0,82
Alcools	0,14	
Esters	ND	0,03
Hydrocarbures	3,3	2,78

D'après les résultats de tableau n°29 nous montre un histogramme comparatif des différentes classes chimiques de l'huile essentielle en présence de SDS et CTAB.

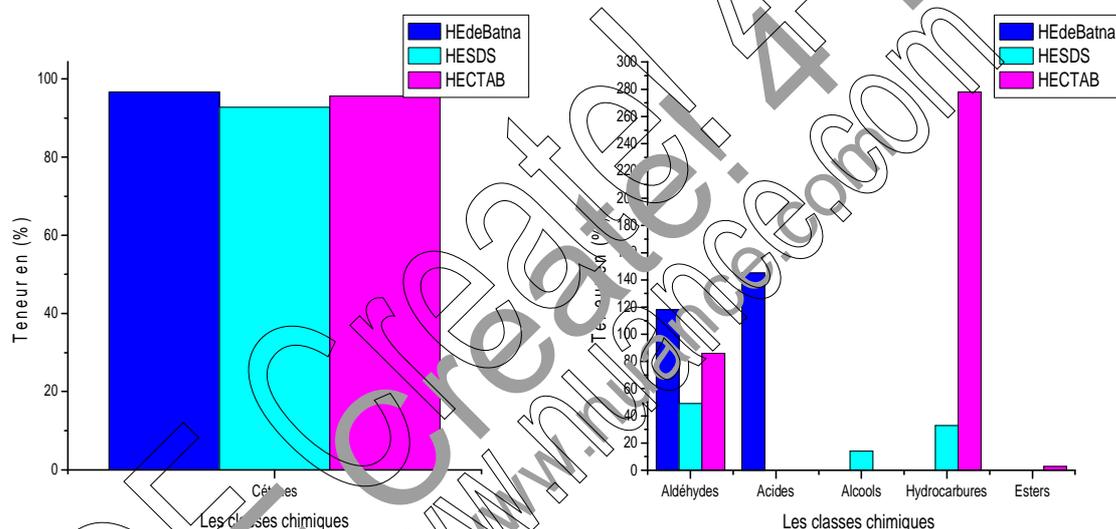


**Figure n°59 :** Histogrammes des différentes classes chimiques des huiles essentielles étudiées en présence des tensioactifs.

**Tableau n°30 :** Comparaison des différentes classes chimiques présentes dans l'huile essentielle de « *Ruta montana L.* » de la région de Batna en présence et en absence des tensioactifs.

Classes chimiques	Teneur relatives %		
	En absence des tensioactifs	SDS	CTAB
Cétones	96,69	92,72	95,63
Aldéhydes	1,18	0,49	0,86
Acides	1,45	ND	ND
Alcools	ND	0,14	ND
Hydrocarbures	ND	3,3	2,78
Esters	ND	ND	0,03

D'après le résultat pu établir un histogramme comparatif de classes chimiques présentées dans les huiles essentielles en présence et en absence des tensioactifs.



**Figure n°60 :** Histogramme comparatifs des classes chimiques présentées dans les huiles essentielles en présences et en absences des tensioactifs.

À la lumière des résultats illustrés dans le tableau ci-dessus, on note les points suivants :

- Nous constatons, le caractère cétonique de l'huile essentielle de « *Ruta montana L.* » de la région de Batna en présence et en absence des tensioactifs.
- D'un point de vue quantitatif, la teneur relative des cétones (voisine de 95%) est la même pour les trois échantillons.
- De 1,45% dans l'huile essentielle en absence des tensioactifs, la teneur en acides passe à 0% en présence des tensioactifs. Une diminution des teneurs relatives en Aldéhydes de 1,18% en absence des tensioactifs à 0,49% ; 0,86% en présence de SDS et CTAB respectivement

- Une absence totale des composés hydrocarbonés a été remarquée dans l'HE de « *Ruta montana L.* » en absence des tensioactifs. Alors que des teneurs de l'ordre (3,3% et 2,78%) ont été enregistrées dans l'huile essentielle de la même espèce en présence de SDS et CTAB respectivement.
- Autres dérivés chimiques ont été détectés citons : les esters (0,03%) en présence de CTAB, et les alcools (0,14%) en présence de SDS. Autres dérivés chimiques 0,86% ont été détecté.

Les différentes observations mentionnées précédemment confirment l'hypothèse que nous avons émise, lors de l'étude de l'extraction de l'huile essentielle à partir de « *Ruta montana L.* » par une hydrodistillation (type clevenger) en présence des tensioactifs, où on a enregistré la dominance des produits oxygénés (cétones, aldéhydes...etc.), cela peut être expliquer par leurs affinité vis-à-vis de l'eau qui facilite leur entraînement à la surface et leur évaporation par la température, cela est corroboré par l'augmentation de la quantité des hydrocarbures. Ces composés hydrophobes ne sont extrais qu'à en absence de tensioactifs, avec des teneurs de 3,3% et 2,78% en présence de SDS et CTAB respectivement. L'apparition des alcools dans l'huile essentielle de « *Ruta montana L.* » en présence de SDS, peut être qu'il s'agirait un transfert de matière accompagné de réaction chimique. Il résulte d'une hydrolyse des esters obtenus suite à la solubilisation des cires épicuticulaires par les tensioactifs présents dans la cuticule végétale.

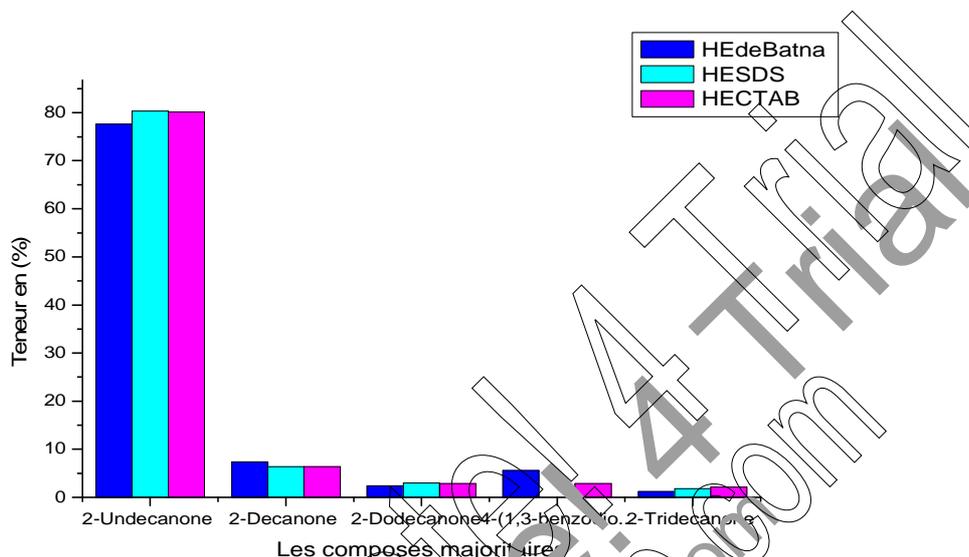
Ces résultats montrent l'importance de l'utilisation des surfactants qui jouent un rôle non seulement comme agents qui aident à l'éclatement des poches sécréteurs pour augmenter le rendement mais aussi comme extracteurs sélectifs tout en facilitant l'extraction des composés hydrophobes en abaissant la tension superficielle du milieu .

Le tableau ci-dessous présente les différents composés majoritaires présents dans les huiles essentielles sans et avec les tensioactifs.

**Tableau 83 :** Des teneurs relatives des composés majoritaires en (%) de l'huile essentielle de « *Ruta montana L.* » en présence et en absence des tensioactifs.

Composés majoritaires	En absence des tensioactifs	En présence des tensioactifs	
		SDS	CTAB
2-Undecanone	77,6	80,33	80,121
2-Decanone	7,359	6,354	6,426
2-Dodecanone	2,409	3,024	2,854
4-(1,3-benzodioxol-5-ylmethyl)-4,5-dihydrofuran-2(3H)-one	5,60	/	2,849
2-Tridecanone	1,183	1,811	2,088

À titre de comparaison entre les teneurs relatives en pourcentages des composés majoritaires des huiles essentielles de « *Ruta montana L.* » des deux régions étudiées, un histogramme comparatif a été réalisé dans la figure n°41.



**Figure n°61 :** Histogramme comparatif des composés majoritaires de l'HE de l'espèce étudiée de la région de Batna en absence et en présence des TA.

Les résultats de tableau n°3 montrent que les teneurs des constituants majoritaires cétoniques de l'huile essentielle de « *Ruta montana L.* » provenant de la région de Batna en présence des tensioactifs présentent une augmentation de point de vue quantitatif avec des teneurs relatives plus importantes en présence de CTAB. Ce résultat confirme l'affinité de ce tensioactif cationique vis-à-vis les composés oxygénés à titre d'exemple les cétones.

### II.3. Activité de piégeage du radical DPPH de l'huile essentielle en présence des tensioactifs (SDS, Tween)

Tableau n°32 : Le pouvoir de piégeage du radical DPPH par l'huile essentielle de « *Ruta montana L.* » de la Région de Batna en présence et en absence des tensioactifs :

Concentration de l'HE de la « Rue » en présence et en absence des TA (mg/mL)	I(%) de HE sans tensioactifs	I(%) SDS	I(%) Tween
0	0	0	0
1,2	0,193	0,366	0,505
3	11,979	0,183	2,377
6	23,705	1,828	10,481
15	43,255	15,417	24,863
18	47,887	21,197	28,336
24	57,162	33,000	35,710
30	62,887	39,122	38,269

D'après les résultats nous montre un histogramme comparatif du pouvoir antioxydant de l'huile essentielle de « *Ruta montana L.* » de Batna en absence et en présence des tensioactifs.

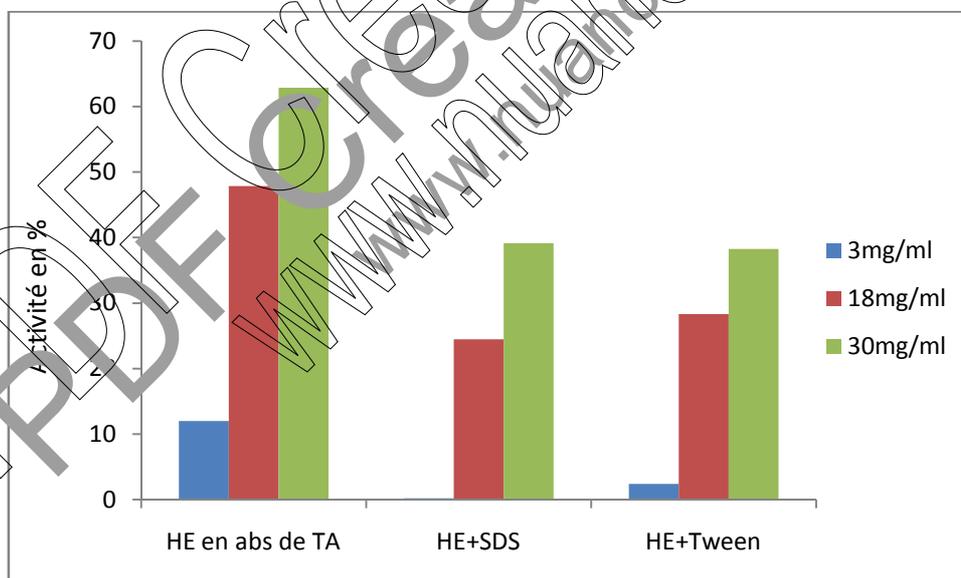


Figure n°62 : Histogramme du pouvoir antioxydant de l'huile essentielle de « *Ruta montana L.* » de Batna en absence et en présence des tensioactifs.

Les résultats de tableau n°32 nous à permis de constater les remarques suivantes :

- ❖ On remarque le pouvoir radicalaire du DPPH de l'huile essentielle de « *Ruta montana L.* » en présence de Tween plus important par apport à celle qu'on a constaté en présence de SDS, quelque soit la concentration utilisée.
- ❖ Par ailleurs, les résultats illustrés dans le tableau nous a permis de conclure que l'huile essentielle de « *Ruta montana L.* »provenant de la région de Batna présente une activité antioxydante d'autant plus importante en absence de tensioactifs par apport à celle attribuée en présence des deux tensioactifs utilisés quelque soit la concentration .Cela est confirmé par l'estimation des différentes
- ❖ Malgré la concentration maximale de (30mg/mL), l'activité de piégeage du radical DPPH ne dépasse pas les 39%.Par conséquent il nous a été impossible de déterminer la concentration inhibitrice des 50% des radicaux libres.

## CONCLUSION

PDF Creator Trial  
www.nuance.com

## Conclusion

À l'issue de la présente recherche qui représente une étude phytochimique et biologique de la plante « *Ruta montana L.* » des deux régions différentes (Blida et Batna), nous sommes arrivés à des résultats qui nous ont permis la caractérisation de cette plante.

L'objectif de ce travail visait la mise des deux points essentiels :

- L'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation (type cleverger) de l'espèce « *Ruta montana L.* » provenant des deux différentes régions (Blida et Batna). Pour évaluer les rendements, la composition chimique, et le pouvoir antioxydant.
- L'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation (type cleverger) de « *Ruta montana L.* » provenant de la région de Batna en présence des agents surfactants anioniques et non ioniques. Pour vérifier l'utilisation de ces agents sur l'extraction des huiles essentielles.

Les résultats obtenus lors de la réalisation de cette étude nous ont permis de formuler les points suivants :

- L'extraction par hydrodistillation (type cleverger) des huiles essentielles de « *Ruta montana L.* » récoltées des deux régions étudiées, donne des rendements importants pour les deux régions à raison de 2,53%, 2,01% pour Batna et Blida respectivement.
- L'analyse chimique de l'huile essentielle de « *Ruta montana L.* » par CG/MS des deux régions étudiées est composée de 10 constituants qui représentent 88,01% et 14 constituants qui représentent 89,07% de la totalité des pics de la région de Batna et Blida respectivement. et on note que le caractère cétonique reste toujours dominant dans les deux régions étudiées.
- Pour la quantification en composés phénoliques (phénols totaux et tanins) de l'extrait méthanolique de « *Ruta montana L.* » des deux régions étudiées (Blida et Batna).
  - Une teneur similaire de la quantité des phénols totaux pour les deux régions Batna et Blida à raison (0,09EAG/g d'extrait sec).
  - Une teneur en tanins plus importants pour les deux régions étudiées mais la quantité des tanins de l'extrait de l'espèce étudiée de la région de Batna est supérieure à celle de l'extrait de « *Ruta* » de la région de Blida.
- L'activité antioxydante de l'huile essentielle et de l'extrait brut de « *Ruta montana L.* » a été évaluée par la méthode de piégeage de radical DPPH. En résultent que l'activité antioxydante de l'huile essentielle et l'extrait de

« *Ruta montana L.* » provenant de la région de Batna est nettement supérieur à celle provenant de la région de Blida.

Pour la deuxième partie de l'extraction des huiles essentielles de « *Ruta montana L.* » de la région de Batna en présence des tensioactifs nous avons illustrés les résultats suivants :

- On a enregistré une augmentation de rendement lors de l'utilisation de tensioactifs à raison de (2,85%, 2,5%) pour le SDS et Tween respectivement par rapport au l'huile essentielles sans tensioactifs, pourrait être due au fait que la solution aqueuse s'achemine plus facilement à travers la cuticule végétale de la plante.
- La composition chimique des huiles essentielles en présence des tensioactifs présente toujours le caractère cétonique. Une augmentation remarquable en hydrocarbure en présence des deux tensioactifs utilisés.
- L'activité antioxydante par la méthode de radical DPPH montre que l'huile essentielle de « *Ruta montana L.* » en présence des tensioactifs (SDS et Tween) donne faible activité antioxydante par rapport à l'huile essentielle en absence des tensioactifs.

PDF Create! 4 Trial  
www.nuance.com

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

PDF Creator 4 Trial  
www.nuance.com

1. **Abdelli.M, 2010.** Extraction des huiles essentielles de *Salvia officinalis* .L, de *Rosmarinus officinalis*.L et de *Coriandrum sativum*.L par hydrodistillation en présence des tensioactifs. Thèse de magister.
2. **Adams R.P, 2001.** Identification of essential oil components by CG/MS.
3. **Afnor, 2000.** Huiles essentielles. Échantillonnage et méthodes d'analyses. Paris.
4. **Afnor1998.** Huiles essentielles.
5. **Ait Youssef, 2006.** plante médicinale de Kabylie. Ed. Ibis press.
6. **Bartels. A, 1997.** Guide des plantes méditerranéennes. Paris . 323p.
7. **Beckchi C et Abdelouahid ; D., 2010.** Les huiles essentielles, Edition office des publications universitaires. 55p.
8. **Belkacem.A, Zellagui.A, Ghenaf.N, Lahoual.M, Lhouati.S, 2011.** Essential oil composition of Algerian « *Ruta montana* »(ciss) and antibacterial effects on microorganismes responsible for respiratory infections article.
9. **Benarous.K, 2006.** Effet des extraits de quelques plantes médicinales locales sur les enzymes alpha amylase, trypsine et lipase.
10. **Benjilali.B, 2004.** Extraction des plantes aromatiques et médicinales : cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements. Institut agronomique et vétérinaire, Maroc.
11. **Benkiki.N, 2006.** Etude phytochimique des médicinales Algériennes : *Ruta montana*, *Matricaria pubescens*, et *Hypericum perforatum* , these de Doctorat d'état en chimie
12. **Bognolo, G. (2004)** Tensioactifs non ioniques : Mise en œuvre industrielle. Techniques de l'ingénieur, Paris, J2265, in Nogueira, 2005.
13. **Bognolo.G, 1997.** Nonionic surfactant in Lipid Technologies and Applications, éd.
14. **Boutoumi .H, Moulay.S,KHoudja.M,2009.** Essential oil from *Ruta montana* . (Chemical composition, insecticidal and larvicidal activités.Vol 12N° 6pp. 714-721.
- 15.**Brunton.J,1993.**Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 2èmeédition Lavoisier, 385-626P.
16. **Brunton.J, 1999.** Plantes toxiques (végétaux dangereux pour l'homme et les animaux), 2<sup>ème</sup> Ed. Tec et doc.

17. **Brunton.J, 1999.** pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. Tec & Doc ; Pp : 461-769.
18. **Chamel.A, Gaillardor.P, Gauvrit.C, 1991.** Les herbicides : mode d'action et principes d'utilisation. Rene scalla inka 7-31, in Abedelli, 2010.
19. **Clemberg.K, Jonsson.B, Kromberg.B, Lindman.B, 2003.** Surfactant and polymers in aqueous solution 2<sup>ème</sup> Ed, in Nogueira, 2005.
20. **Couplan.F, 1990.** Plantes sauvages et toxiques, encyclopédie des plantes comestibles de l'Europe.
21. **Dasilva de la sale. K, 2004.** Approche thermodynamique et cinétique de l'extraction à deux phases aqueuses à l'aide de tensioactifs non ioniques. Thèse de doctorat n° d'ordre 2128. Institut national polytechnique de Toulouse.
22. **Derdoura.A, Younes.C, Soulimani.R, 2008.** Chemical composition and antioxidant potential of *Rutamontana L.* essential oil from Algeria. Journal of medicinal food. V: 11.
23. **Djeridane.A, Yousif.M., Nedjmi.B., Boufossouma.D., Stocker.P., Vidal.N., 2005.** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plant extracts containing phenolic compounds. Ed food chemistry.
24. **Donatien, 2009.** Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes – Extraction, identification des polyphénols, dérivés caractérisation, quantification des polyphénols : Etude de leur activité antioxydante.
25. **Durande, 1782.** Notion élémentaires de botaniques, 284, in Benkiki, 2006.
26. **François.C, 1994.** Guide des plantes sauvages comestibles et toxiques. Ed :Delachaux (1994).Paris.
27. **François.C, 2000.** Dictionnaire étymologique de botanique .Ed.Delachaux et Niestlé. Paris.
28. **François.C, 2009.**Le guide nutritionnel des plantes sauvages et cultivées. Ed. Delachaux et niestlé.
29. **Grete.P, 1965.** Précis de botanique (systématique des angiospermes). Ed. Masson. Paris.
30. **Guignard J.L, 2001.** Botanique systématique moléculaire 12<sup>ème</sup> édition. Paris.
31. **Guignard.J.L, 1972-1998.** Abrégés de botanique. Ed Masson,Paris , Millan, Barcelone, in Benkiki, 2006.

32. **Gunstone, F.D. et Padley, F.B.**, Marcel Dekker, New York, 633-694, in Nogueira, 2005.
33. **Gussen.H,Leroy.J ,F,Ozenda.P.** Précis de botanique 2.Végétaux supérieurs. 2édition. Masson.
34. **Guy.D, 1967.** Organisation et classification des plantes vasculaires, société d'édition d'enseignement supérieur, Pris, in Benkiki, 2006.
35. **Kaci.M, Alloune.K, 2010.** Huiles essentielles et extraits d'origanum floribundum et de Rutamontana. Mémoire ingénieur.
36. **Kambouche N, Merah B, Belahoual S, Bouayad J, Dicho . A, Lagunez.R .L, 2006.** Étude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe. Thèse de Doctorat. Institut National Polytechnique de Toulouse.
- 37.**Lagunez rivira. L, 2006.** Étude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe. Thèse de Doctorat. Institut National Polytechnique de Toulouse.
38. **Lamontagne .J.C, 2008.** Les plantes aromatiques. Ed. Hustia .p103.
39. **Mackay.R.A, 1987.** Solubilization. in Non ionic Surfactants: Physical Chemistry; Shick,M.J.; ed. Par Surfactant Science Series 23; Marcel Dekker: New York, chap. 6, in Nogueira,
- 40.**Martini.MC, Seiller. M, 1999.** Actifs et additifs en cosmétologie. Procédés d'extraction des huiles essentielles. Edition Tec et Doc, Edition médicales. p563.
41. **Mohr.N, Bucari.K.H, El-Tawi.B, 1982.**Phytochemistry, 7(9), 1838, in Benkiki, 2006.
42. **Navas.Y, 197 .**Qu'est ce qu'une huile essentielle. Ed. Masson. Paris.
43. **Nogueira.D, 2005.**Extraction à deux phases aqueuses à l'aide d'alcools polythoxyles en vue de l'élimination de polluants organiques et d'ions méyalliques. Thèse de doctorat.
44. **Odile.C, Daniele.R, 2007.**Botanique pharmacognosie phytothérapie 3<sup>ème</sup> édition .Wolterqs kluwer.
45. **Quzel.P et Santa.S, 1963.** Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed. GNRS, Paris.
46. **Rosen, M.J. (1989)** Surfactants and Interfacial Phenomena. 2a Ed., John Wiley & Sons, in Nogueira, 2005.

47. **Rungthip.K, Sambat.C, 2009.** Stability of chemical component and antioxydant activity of volatils oils from some medicinal plants in Thailand.
48. **Salle.J, 1991.** Les huiles essentielle synthèse de l'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie .Edition Frison – Roche, Pris.
49. **Schwuger. M.J, Stickdorn. K, (1995)** Microemulsions in Technical Process. Chem. Rev., 95, 849-864.
50. **Tamuna.H, Yamasaki. K, Isomio.K, Yoshikawa.T,** Effet of the polyoxyethylene chairlengt of triton x surfactants on the adsolubilisation of reconstituted, in Abedelli, 2010.
51. Tensioactifs et oléagineux. Etude sur les matières premières oleagineuses disponibles sur le marché européenne pour la production de tensioactifs (2011).
52. **Teuscher.E, Auton.R, Lobstein A, 2005.** Plantes aromatiques (épices, aromates, Condiments et huiles essentielles. Paris Tec et Doc, médicales internationales : 423-427p.
53. **Tomas.A, Caurthaudon.J.L, Paquet.D, Lorient.D, 1994.** Food hydrocolloids, 8p543, in Abedelli, 2010.
54. **Vingent.S, Mutille.F, Daniel.J, Mahieu.P, 2004.** Botanique nouvelles des plantes à fleurs, une approche phylogénétique nouvelles des angios.Ed : Les presses théchniques et ministaires.5Lausanne p272).
55. **Wang L, Weller. C, 2006.** Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. Trends in Food Science & Technology.
56. **Weterman.F G, Grundon.M. F, 1983,** Chemistry, chemical taxonomy of the Rutales Academic Press London- New York, in Benkiki, 2006.
57. **Zellagui. A, Boukacem.A, Belaidi A, Ghenaf .N, 2012.** Enviremental impact of the chemical composition and yield of essential oils of Algerian « *Ruta montana* » (clus).Land their antioxidant and antibacterial activities.
58. **Zougab.D, 2007.** Extraction des hydrocarbures aromatiques à partir d'une coupe pétrolière par microémulsion. Thèse de magister .Boumerdes.

PDF Create! 4 Trial  
www.nuance.com

# ANNEXES

**Annexe n°1** : Appareillage utilisé pour la réalisation de cette étude;



**Figure n°01** : Appareil de spectrophotomètre (Originale)

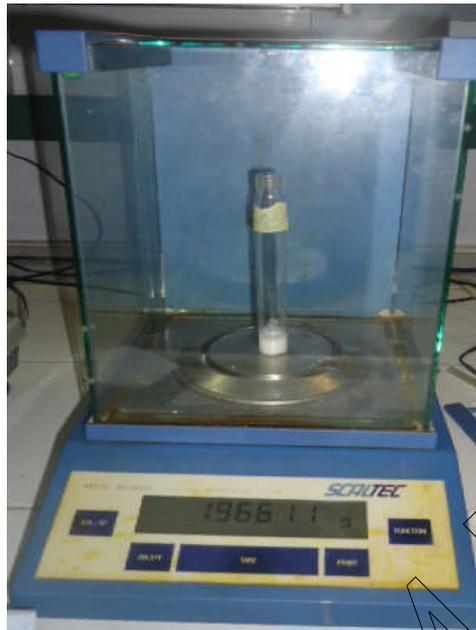


**Figure n° 02** : Evaporateur rotatif (Originale).



Figure n°03 : Etuve (Originale).





**Figure n°04 : Balances analytiques(Originale).**

**Annexe n° 02 : Les propriétés de l'éthanol**

- Pureté 96%
- Date de production : 20 / 04 /2011.
- Exp date : 24/03/2014.
- Quality by Reidel-de Haen
- Product of Germany.

**Annexes n°03 : Les propriétés de C1AB**

- Pureté :  96%

**Annexes n°04 : propriétés des antioxydants de synthèses**

Nature	Solubilité	Stabilité à la chaleur	Remarque	Exemple d'application
<b>BHT</b>	-Bonne solubilité dans les huiles et graisse	-Bonne stabilité	-plus volatile que BHA	-Efficace dans les graisses
<b>VitC</b>	-Hydrosoluble			-Boisson

PDF Create! 4 Trial  
www.nuance.com